

Включен в Перечень рецензируемых научных изданий ВАК РФ, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученых степеней по научным специальностям:

1.5.9. Ботаника, 1.5.11. Микробиология, 1.5.12. Зоология, 1.5.7. Генетика, 1.5.18. Микология, 3.2.7. Аллергология и иммунология (биологические и медицинские науки), 3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика

Учредитель: Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Пермский государственный национальный исследовательский университет»

Редакционный совет

В. С. Артамонова, д.б.н., Институт почвоведения и агрохимии СО РАН, г. Новосибирск, Россия
О. Ю. Баранов, д.б.н., Институт леса НАН Беларуси, г. Гомель, Беларусь
О. Г. Баранова, д.б.н., Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, г. С.-Петербург, Россия
В. Д. Богданов, д.б.н., чл.-корр. РАН, Институт экологии растений и животных УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия
М. В. Винарский, д.б.н., Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург, Россия
О. В. Долгих, д.м.н., Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения Роспотребнадзора, г. Пермь, Россия
С. А. Заморина, д.б.н., Пермский государственный национальный исследовательский университет, г. Пермь, Россия
Е. В. Зиновьев, д.м.н., Институт экологии растений и животных УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия
Р. А. Календарь, к.б.н., "National Laboratory Astana", Назарбаев Университет, г. Нур-Султан, Республика Казахстан
Э. А. Коркотян, к.б.н., Научно-исследовательский институт им. Вейцмана, г. Реховот, Израиль
Н. Кристофи, PhD, Эдинбургский Нэйпир университет, г. Эдинбург, Великобритания
А. И. Литвиненко, д.б.н., Государственный аграрный университет Северного Зауралья, г. Тюмень, Россия
П. Б. Михеев, PhD, доцент, Пермский государственный национальный исследовательский университет, г. Пермь, Россия
Е. Г. Плотникова, д.б.н., Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, г. Пермь, Россия
Д. В. Политов, д.б.н., Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, г. Москва, Россия
А. В. Пузанов, д.б.н., Институт водных и экологических проблем СО РАН, г. Барнаул, Россия
М. Б. Раев, д.б.н., Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, г. Пермь, Россия
Е. В. Рахимова, д.б.н., Институт ботаники и фитоинтродукции Комитета лесного хозяйства и животного мира, г. Алматы, Республика Казахстан
В. А. Черешнев, д.м.н., академик РАН, Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия
А. Г. Ширяев, д.б.н., Институт экологии растений и животных УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия

Редакционная коллегия

С. В. Боронникова, д.б.н., Пермский государственный национальный исследовательский университет, г. Пермь, Россия
С. В. Гейн, д.м.н., Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, г. Пермь, Россия
А. А. Елькин, к.б.н., Пермский государственный национальный исследовательский университет, г. Пермь, Россия
О. З. Еремченко, д.б.н., Пермский государственный национальный исследовательский университет, г. Пермь, Россия
С. Л. Есюнин, д.б.н., Пермский государственный национальный исследовательский университет, г. Пермь, Россия
Е. Г. Ефимик (секретарь редколлегии), к.б.н., Пермский государственный национальный исследовательский университет, г. Пермь, Россия
Н. В. Зайцева, д.м.н., академик РАН, Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения Роспотребнадзора, г. Пермь, Россия
И. Б. Ившина, д.б.н., академик РАН, Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, г. Пермь, Россия
А. Р. Ишбирдин, д.б.н., профессор, Башкирский государственный университет, г. Уфа, Россия
М. С. Куюкина (гл. редактор), д.б.н., Пермский государственный национальный исследовательский университет, г. Пермь, Россия
С. А. Овеснов, д.б.н., Пермский государственный национальный исследовательский университет, г. Пермь, Россия
Л. Г. Переведенцева, д.б.н., Пермский государственный национальный исследовательский университет, г. Пермь, Россия
О. Ю. Устинова, д.м.н., Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения Роспотребнадзора, г. Пермь, Россия

Ответственный редактор выпуска *С. А. Овеснов*

© Редакционная коллегия, 2023

Адрес учредителя и издателя:
614068, г. Пермь, ул. Букирева, 15;
Тел.: 8 (342)2396435; E-mail: info@psu.ru
Подписка на журнал осуществляется онлайн на сайте «Пресса России. Объединенный каталог» <https://www.pressa-ru/cat/1/edition/e41000/>. Подписной индекс 41000
Адрес редакции: 614068, г. Пермь, ул. Букирева, 15;
Тел.: 8 (342)2396233
E-mail: vestnik_psu_bio@mail.ru
Сайт: press.psu.ru/index.php/bio

Журнал зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций. Свид. о регистрации средства масс. информации ПИ № ФС 77-66484 от 14 июля 2016 г.

Editorial Board

- V. S. Artamonova*, Dr. Biol. Sc., Institute of Soil Science and Agrochemistry of the SB RAS, Novosibirsk, Russia
O. Yu. Baranov, Dr. Biol. Sc., Institute of Forest of the NAS of Belarus, Gomel, Belarus
O. G. Baranova, Dr. Biol. Sc., Botanical Institute of the RAS, St. Petersburg, Russia
V. D. Bogdanov, Dr. Biol. Sc., Corresponding Member of the RAS, Institute of Plant and Animal Ecology of UB RAS, Ekaterinburg, Russia
M. V. Vinarski, Dr. Biol. Sc., St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia
O. V. Dolgikh, Dr. Med. Sc., Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, Perm, Russia
S. A. Zamorina, Dr. Biol. Sc., Perm State University, Perm, Russia
E. V. Zinoviev, Dr. Med. Sc., Institute of Plant and Animal Ecology of UB RAS, Ekaterinburg, Russia
R. A. Kalendar, Cand. Biol. Sc. "National Laboratory Astana", Nazarbaev University, Nur-Sultan, Kazakhstan
E. A. Korkotyan, Cand. Biol. Sc. Weizmann Institute of Science, Rehovot, Izrael
N. Christofí, PhD, Edinburgh Napier University, Edinburgh, Great Britain
A. I. Litvinenko, Dr. Biol. Sc., State agrarian University of Northern TRANS-Urals, Tyumen, Russia
P. B. Mikheev, PhD, Perm State University, Perm, Russia
E. G. Plotnikova, Dr. Biol. Sc., Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms of the UB RAS, Perm, Russia
D. V. Polítov, Dr. Biol. Sc., Vavilov Institute of General Genetics of the RAS, Moscow, Russia
A. V. Puzanov, Dr. Biol. Sc., Institute for Water and Environmental Problems of the SB RAS, Barnaul, Russia
M. B. Raev, Dr. Biol. Sc., Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms of the UB RAS, Perm, Russia
E. V. Rachimova, Dr. Biol. Sc., Institute of Botany and Phytointroduction of the Committee for Forestry and Wildlife, Almaty, Kazakhstan
V. A. Chereshev, Dr. Med. Sc., Full Member of the RAS, Institute of Immunology and Physiology of UB RAS, Ekaterinburg, Russia
A. G. Shiryaev, Dr. Biol. Sc., Institute of Plant and Animal Ecology of the UB RAS, Ekaterinburg, Russia

Editors

- S. V. Boronnikova*, Dr. Biol. Sc., Perm State University, Perm, Russia
S. V. Gein, Dr. Med. Sc., Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms of the UB RAS, Perm, Russia
A. A. Elkin, Cand. Biol. Sc., Perm State University, Perm, Russia
O. Z. Eremchenko, Dr. Biol. Sc., Perm State University, Perm, Russia
S. L. Esyunin, Dr. Biol. Sc., Perm State University, Perm, Russia
E. G. Efimik (secretary of the editorial board), Cand. Biol. Sc., Perm State University, Perm, Russia
N. V. Zaitseva, Dr. Med. Sc., Full Member of the RAS, Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, Perm, Russia
I. B. Ivshina, Dr. Biol. Sc., Full Member of the RAS, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms of the UB RAS, Perm, Russia
A. R. Ishbirdin, Dr. Biol. Sc., Bashkir State University, Ufa, Russia
M. S. Kuyukina (editor in chief), Dr. Biol. Sc., Perm State University, Perm, Russia
S. A. Ovesnov, Dr. Biol. Sc., Perm State University, Perm, Russia
L. G. Perevedenceva, Dr. Biol. Sc., Perm State University, Perm, Russia
O. Yu. Ustinova, Dr. Med. Sc., Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, Perm, Russia

Contributed editor of the issue *S. A. Ovesnov*

© Editorial Board, 2023

Founder and Publisher Address:
614068, Perm, Bukireva, 15;
Tel: 8 (342) 2396435; E-mail: info@psu.ru
For subscription, visit the United catalog of Press of Russia:
<https://www.pressa-ru.ru/cat/1/edition/e41000/>. Index 41000

The journal is registered with the Federal Service for Supervision of Communications, Information Technology and Mass Media. Certificate of registration of mass media PI No. FS 77-66484 dated July 14, 2016.

Editorial office address: 614068, Perm, Bukireva, 15;
Tel.: 8 (342) 2396233
E-mail: vestnik_psu_bio@mail.ru
Website: press.psu.ru/index.php/bio

Содержание

Ботаника

- Ефимик Е. Г., Владыкина А. В.* Конспект флоры ООПТ «Ледяная гора и Кунгурская ледяная пещера» (Пермский край) 217

Зоология

- Семенов В. В.* Охотничье-промысловые звери, обитающие в заповеднике «Басеги» на границах ареалов 227
- Четанов Н. А., Литвинов Н. А., Ганцук С. В., Галиулин Д. М.* Температура субстрата, выбираемого рептилиями Камского Предуралья: подходы к определению 235

Микробиология

- Назаров А. В., Пьянкова А. А., Корсакова Е. С.* Особенности деструкции дизельного топлива штаммом *Rhodococcus* sp. NDT23 в условиях повышенной солености 242
- Юртаева Е. А., Утяганова Е. В., Куличенко Е. О., Оганесян Э. Т., Темирбулатова А. М.* Антибактериальная активность извлечений из цветков космеи дваждыперистой (*Cosmos bipinnatus* Cav.) в отношении некоторых клинических изолятов 250

Генетика

- Малых С. Ю.* Генетическое разнообразие российских и европейских представителей *Dryopteris expansa* (C. Presl) Fraser-Jenkins et Jermy (*Dryopteridaceae*) 259

Иммунология

- Гейн О. Н., Гейн С. В., Чижова Е. Г., Носова Н. В.* Иммунобиологическая активность инденопирролов и инденопиридазинов 274
- Морозов И. А., Годовалов А. П.* Цитологические особенности мононуклеарных лейкоцитов, культивированных в присутствии полиаминов 280
- Осиков М.В., Гречишкин М.В., Шишкова Ю.С., Ильиных М.А.* Мелатонин как перспективный фактор коррекции кишечного микробиома при воспалительных заболеваниях кишечника 287
- Правила оформления статей в Вестник Пермского университета. Серия Биология 297

Contents

Botany

- Efimik E. G., Vladoyina A. V.* Flora of the protected area Ice Mountain and Kungur Ice Cave (Perm Krai) 217

Zoology

- Semenov V. V.* Hunting and commercial animals living in the reserve "Basegi" on the borders of the ranges 227
- Chetanov N. A., Litvinov N. A., Ganshchuk S. V., Galiulin D. M.* The temperature of the substrate chosen by the reptiles of the Kama Cis-Urals: approaches to determination 235

Microbiology

- Nazarov A. V., Pyankova A. A., Korsakova E. S.* Peculiarities of diesel fuel degradation by strain *Rhodococcus* sp. NDT23 under high salinity conditions 242
- Yurtayeva E. A., Utyaganova E. V., Kulichenko E. O., Oganessian E. T., Temirbulatova A. M.* Antibacterial activity of extracts from the flowers of the double-feathered cosmea (*Cosmos bipinnatus* Cav.) in relation to some clinical isolates 250

Genetics

- Malyh S. Yu.* Genetic diversity of Russian and European individuals *Dryopteris expansa* (C. Presl) Fraser-Jenkins et Jeremy (*Dryopteridaceae*) 259

Immunology

- Gein O. N., Gein S. V., Chizhova E. G., Nosova N. V.* Immunobiological activity of indenopyrroles and indenopyridazines 274
- Morozov I. A., Godovalov A. P.* Cytological features of mononuclear leukocytes cultured in the presence of polyamines 280
- Osikov M. V., Grechishkin M. V., Shishkova Yu. S., Ilyinykh M. A.* Melatonin as a promising factor in correction of the intestinal microbiome in inflammatory bowel diseases 287

БОТАНИКА

Научная статья

УДК 581.5:502.1(470.53)

doi: 10.17072/1994-9952-2023-3-217-226.

Конспект флоры ООПТ «Ледяная гора и Кунгурская ледяная пещера» (Пермский край)

Елена Герасимовна Ефимик^{1✉}, Анастасия Васильевна Владыкина²

^{1,2} Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

✉ efimik.elena@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9456-2076>

² vladycinanastasia@yandex.ru

Аннотация. Изучена флора историко-природного комплекса регионального значения «Ледяная гора и Кунгурская ледяная пещера», расположенного в ботанико-географическом районе Кунгурской лесостепи Пермского края. Составлен конспект флоры, в котором для каждого вида указаны конкретные биотопы, а также информация об источниках, на основании которых вид был включен в список. Всего на территории ООПТ «Ледяная гора и Кунгурская ледяная пещера» отмечено 308 видов сосудистых растений, относящихся к 190 родам и 58 семействам. Подтверждено наличие трех видов, включенных в Красную книгу Пермского края – *Stipa pennata* (категория редкости III), *Cephalanthera rubra* (категория редкости III), *Anemone uralensis* (категория редкости II). Последние два вида включены также в Красную книгу РФ. Из Приложения к Красной книге Пермского края на территории ООПТ подтверждено наличие *Helianthemum nummularium*, *Polygala sibirica*, *Epipactis atrorubens*, *E. helleborine*, *Helictotrichon schelianum*, *Quercus robur*, *Astragalus sulcatus*, *Aster alpinus*. На территории ООПТ «Ледяная гора и Кунгурская ледяная пещера» в составе флоры отмечено значительное количество синантропных видов растений. Кроме того, обнаружены инвазивные виды растений, такие как *Acer negundo*, *Amelanchier spicata*, *Heraclеum sosnowskyi*, *Caragana arborescens*, *Lupinus polyphyllus*, *Echinocystis lobata*, *Hippophae rhamnoides* и некоторые другие. Высокий процент синантропизации и увеличение площади, занимаемой инвазивными видами, представляет серьезную угрозу для существования уникальных лесостепных сообществ и охраняемых и редких растений ООПТ «Ледяная гора и Кунгурская ледяная пещера».

Ключевые слова: особо охраняемая природная территория, Пермский край, охраняемые виды, Красная книга, Кунгурская лесостепь, Кунгурская ледяная пещера

Для цитирования: Ефимик Е. Г., Владыкина А. В. Конспект флоры ООПТ «Ледяная гора и Кунгурская ледяная пещера» (Пермский край) // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2023. Вып. 3. С. 217–226. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2023-3-217-226>.

BOTANY

Original article

Flora of the protected area Ice Mountain and Kungur Ice Cave (Perm Krai)

Elena G. Efimik^{1✉}, Anastasia V. Vladykina²

^{1,2} Perm State University, Perm, Russia

✉ efimik.elena@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9456-2076>

² vladycinanastasia@yandex.ru

Abstract. The flora of the protected area «Ice Mountain and Kungur Ice Cave» was studied. The protected area is located in the Kungur forest-steppe of the Perm Krai. A list of plant species has been compiled, indicating specific biotopes for each species, as well as sources of information. On the protected area, there are 308 species of vascular plants belonging to 190 genera and 58 families. The presence of three species included in the Red Book of the Perm Krai has been confirmed – *Cephalanthera rubra* (III category of rarity) and *Stipa pennata* (III category of rarity) and *Anemone uralensis* (II category of rarity). Rare species are found in the protected area: *Helianthemum nummularium*, *Polygala sibirica*, *Epipactis atrorubens*, *E. helleborine*, *Helictotrichon schelianum*, *Quercus robur*, *Astragalus sulcatus*, *Aster alpinus*. Synanthropic and invasive species are found in protected area: *Acer negundo*, *Amelanchier spicata*, *Heraclеum sosnowskyi*, *Caragana arborescens*, *Lupinus polyphyllus*, *Echinocystis lobata*, *Hippophae rhamnoides*. Synanthropic and invasive species pose a serious threat to

the existence of unique forest-steppe communities and protected and rare plants of the Ice Mountain and Kungur Ice Cave protected area.

Keywords: protected area, Perm Krai, protected species, Red Book, Kungur forest steppe, Kungur Ice Cave

For citation: Efimik E. G., Vladykina A. V. [Flora of the protected area Ice Mountain and Kungur Ice Cave (Perm Krai)]. *Bulletin of Perm University. Biology.* Iss. 3 (2023): pp. 217-226. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2023-3-217-226>.

Введение

Историко-природный комплекс регионального значения «Ледяная гора и Кунгурская ледяная пещера» известен не только в Пермском крае, но и далеко за его пределами. В туристическом плане, без сомнения, наиболее привлекательным объектом здесь является одна из крупнейших пещер России – Кунгурская ледяная пещера. Но не меньший интерес представляет лесостепной флористический комплекс, расположенный над пещерой, на поверхности Ледяной горы. Этот участок ковыльных степей вместе с такими же лесостепными участками расположен на территории ботанико-географического района Кунгурской островной лесостепи, который является самым северным участком ковыльных степей в Европе [Овеснов, 2000; 2009]. Не только Кунгурская ледяная пещера, но и удивительный облик территории, особенно в период цветения и плодоношения ковылей, привлекает большое количество туристов.

Издавна привлекала эта территория и исследователей-ботаников. Первое флористическое обследование Ледяной горы в пределах современной ООПТ, было выполнено Н.Н. Рычковой [1961]. Исследования Н.Н. Рычковой внесли большой вклад в изучение растительности данной территории, и до сегодняшнего дня это наиболее полное описание ботанической составляющей ООПТ. Некоторые данные по флоре и растительности Ледяной горы можно найти в монографии П.Л. Горчаковского «Основные проблемы исторической фитогеографии Урала» [1969], в которую включены сведения о видах растений, произрастающих на гипсовых обнажениях р. Сылвы у г. Кунгур. В 2009 г. по биоразнообразию флоры и фауны ООПТ опубликована статья Д.В. Наумкина и О.И. Кадебской [2009], но кроме общего количества видов высших растений, иных данных по флоре в статье нет. Изучение флоры и растительности Ледяной горы, сопровождаемое гербарными сборами, проводили сотрудники и студенты Пермского государственного университета (ПГУ – ПГНИУ) – А.М. Овеснов (в 1969 г.), С.И. Шилова (в 1973 г.), Н. Чуприна (в 1982 г.), С.А. Овеснов и Я.В. Долматова (в 1994-95 гг.), К. Лыхина, Р.В. Штейников, А.В. Владыкина, Е.Г. Ефимик (2005-2022 гг.). В 2021 г. краткая характеристика растительности ООПТ была дана Владыкиной А.В. [2021]. Гербарные сборы сотрудников и студентов ПГНИУ хранятся в Гербарии университета (PERM) и являются важной летописью изучения флоры ООПТ. Тем не менее, современных общедоступных опубликованных данных о состоянии растительности ООПТ нет, не существует и полного флористического списка для данной территории. Такой список помог бы вести мониторинг на ООПТ «Ледяная гора и Кунгурская ледяная пещера», а также планировать любые мероприятия, связанные с охраной данного уникального флористического комплекса.

Материал и методика

Историко-природный комплекс регионального значения «Ледяная гора и Кунгурская ледяная пещера» расположен на северо-восточной окраине г. Кунгур в Пермском крае. Территория ООПТ занимает участок, вытянутый на 1.5 км вдоль правого берега реки Сылвы (рисунок). Его площадь составляет 106.0 га [Атлас особо ..., 2017].

Растительность ООПТ «Ледяная гора и Кунгурская ледяная пещера» [Рычкова, 1961; Владыкина, 2021] представлена лесами и лугово-степными сообществами различных типов. Наиболее распространены светлохвойные сосновые леса (сосновые посадки) и мелколиственные (березовые) леса, также отмечаются небольшие участки темнохвойного (елового) леса. По берегу реки Сылвы развиты ивняки. Склоны южной экспозиции занимают участки ковыльной, овсецово-ковыльной и каменистой степи. На южных склонах реки Сылвы (на так называемых скальных обнажениях) развита каменистая степь. Мезофильные луга, сформированные под линиями ЛЭП, на лесных полянах и на участках, ранее использовавшихся под выпас, находятся под сильным воздействием рекреации.

С 2005 г. нами проводились эпизодические обследования (1–2 раза в сезон) флоры и растительности ООПТ «Ледяная гора и Кунгурская ледяная пещера», а в 2020–2022 гг. – поквартально-маршрутные обследования в период всего вегетационного сезона. Полевые обследования флористического состава и растительности осуществляли по общепринятым методикам [Толмачев, 1959; Корчагин, 1964; Методы изучения ..., 2002], видовой состав растений определялся как непосредственно на местности, так и в камеральных условиях на кафедре ботаники и генетики растений ПГНИУ. Дополнительно нами была просмотрена коллекция научного Гербария ПГНИУ (PERM) в количестве около 60 тыс. образцов, среди ко-

торых обнаружено 125 видов, собранных на территории ООПТ. Информация о них также вошла в составленный конспект флоры.



Картосхема ООПТ «Ледяная гора и Кунгурская ледяная пещера» [Атлас особо ..., 2017]

[Map of the protected area Ice Mountain and Kungur Ice Cave; Vuzmakov, 2017]

Порядок расположения семейств, номенклатура и объем видов в статье дана по «Иллюстрированному определителю растений Пермского края» [2007] с некоторыми изменениями по ряду названий. Роды внутри семейств и виды внутри родов расположены в порядке латинского алфавита. Для каждого вида указаны конкретные биотопы, в которых обнаружены растения (в соответствии с гербарием или в соответствии с полевыми наблюдениями). В скобках после указания биотопа приведены данные об источниках информации, на основании которых вид был включен в конспект: А – научный Гербарий ПГНИУ (PERM); Б – найден нами на территории ООПТ «Ледяная гора и Кунгурская ледяная пещера» в ходе полевых исследований; В – указан в работе Н.Н. Рычковой [1961]; Г – указан в работе Д.В. Наумкина, О.И. Кадебской [2009]; Д – указан в «Атласе особо охраняемых природных территорий Пермского края» [2017]; Ж – указан в работе П.Л. Горчаковского [1969].

Конспект флоры ООПТ «Ледяная гора и Кунгурская ледяная пещера»

Семейство *Equisetaceae* – Хвощовые

1. *Equisetum arvense* L. Опушка рядом с сосновыми посадками (Б). 2. *Equisetum pratense* Ehrh. Сосновые посадки, склон березового лога (Б).

Семейство *Hypolepidaceae* – Подчешуйниковые

3. *Pteridium pinetorum* C.N. Page & R.R. Mill. Сосновые посадки, карстовые воронки (Б, В).

Семейство *Dryopteridaceae* – Щитовниковые

4. *Dryopteris filix-mas* (L.) Schott. Включения ельника в сосновых посадках (Б). 5. *D. carthusiana* (Vill.) H.P. Fuchs. Включения ельника в сосновых посадках (Б).

Семейство *Pinaceae* – Сосновые

6. *Picea obovata* Ledeb. Сосновые посадки (Б). 7. *Pinus sibirica* Du Tour. Водораздел, склон южной экспозиции (Б). 8. *Pinus sylvestris* L. Водораздел, в посадках (Б).

Семейство *Typhaceae* – Рогозовые

9. *Typha latifolia* L. Заболоченная карстовая воронка (Б).

Семейство *Poaceae* – Злаки

10. *Agropyron reflexiaristatum* Nevski. Исток лога над входом в Кунгурскую Ледяную пещеру. Верхняя часть склона восточной экспозиции (А, Б, Ж). 11. *Agropyron repens* (L.) P. Beauv. Склон южной и восточной экспозиции. Сосновый лес (А, Б). 12. *Agrostis tenuis* Sibth. Склон южной экспозиции, известковые обнажения (Б, В). 13. *Agrostis giganteum* Roth. Березовый лес, склон карстовой воронки, подножье каменистого склона р. Сылвы (Б). 14. *Arrhenatherum elatius* (L.) J. Presl & C. Presl. Склон южной экспозиции, под линиями электропередач, пустырь возле дороги (Б). 15. *Brachypodium pinnatum* (L.) Beauv. Коренной склон р. Сылвы, каменистые обнажения, склон карстовой воронки (Б). 16. *Bromus inermis* Leyss. Пустырь возле дороги, под линиями электропередач (Б). 17. *Calamagrostis epigeios* (L.) Roth. Коренной склон р.

Сылвы, пойма реки, каменистые обнажения (Б). 18. *Dactylis glomerata* L. Пойма р. Сылвы, обочина грунтовой дороги, под линиями электропередач (Б). 19. *Deschampsia cespitosa* (L.) P. Beauv. Сосновые посадки (Б). 20. *Elymus caninus* (L.) L. Пойма р. Сылвы (Б). 21. *Elymus fibrosus* (Schrenk) Tzvel. Склон южной экспозиции, каменистые обнажения (Б). 22. *Festuca pratensis* Huds. Ложок над входом в Кунгурскую ледяную пещеру, нижняя часть склона, разнотравный луг, березовый лес (А, Б, В). 23. *Festuca pseudovina* Hack. ex Wiesb. Склон березового лога, западная экспозиция (А, Б, В, Ж). 24. *Festuca rubra* L. Склон южной экспозиции, каменистые обнажения (Б, В). 25. *Festuca gigantea* (L.) Vill. Березовый лес, коренной склон р. Сылвы, каменистые обнажения (Б). 26. *Helictotrichon desertorum* (Less.) Nevski. Каменистый склон, известняковые скалы и обнажения (Б, В, Ж). 27. *Helictotrichon schellianum* (Hack.) Kitag. Каменистый склон, известняковые обнажения (Б, Д). 28. *Phalaroides arundinacea* (L.) Rauschert. Коренной склон р. Сылвы, пойма реки, каменистые обнажения (Б). 29. *Phleum phleoides* (L.) Karst. Склон южной экспозиции, карстовые воронки (Б, В, Ж). 30. *Phleum pratense* L. Опушка возле сосновых посадок, по обочинам дорог (Б, В). 31. *Poa compressa* L. Склон юго-восточной экспозиции, выход известняков (А, Б). 32. *Poa nemoralis* L. Карстовая воронка в березовом лесу с примесью сосновых посадок (А, Б). 33. *Poa palustris* L. Пойма р. Сылвы (А, Б). 34. *Poa pratensis* L. Известняковый склон южной экспозиции, высокая равнина, сосновые посадки (А, Б, В). 35. *Poa angustifolia* L. Обочина грунтовой дороги, сосновые посадки (А, Б). 36. *Poa annua* L. Тропинка на южной границе (Б). 37. *Poa stepposa* (Kryl.) Roshev. Известняковый склон южной экспозиции (Б). 38. *Stipa pennata* L. Известняковые обнажения, остепененный склон, опушки березовых колков (Б, В, Д, Ж).

Семейство *Superaceae* – Осоковые

39. *Carex caryophyllea* Latourg. Над пещерой (А, Б). 40. *Carex digitata* L. Сосновые посадки (Б). 41. *Carex montana* L. Вершина Ледяной горы, край карстовой воронки, мезофильный луг (А, Б). 42. *Carex pediformis* C.A. Mey. Склон южной экспозиции, выходы известняков (А). 43. *Carex praecox* Schreb. Известняковый склон, склон южной экспозиции (А, Б). 44. *Carex rhizina* Blytt ex Lindblom. Сосновые посадки, склон, березового лога (А, Б).

Семейство *Lemnaceae* – Рясковые

45. *Lemna minor* L. Заболоченная карстовая воронка (А, Б). 46. *Spirodela polyrhiza* (L.) Schleid. Озеро в карстовой воронке (А, Б).

Семейство *Juncaceae* – Ситниковые

47. *Luzula pilosa* (L.) Willd. Березовый лес (Б).

Семейство *Liliaceae* – Лилейные

48. *Allium strictum* Schrad. Вершина Ледяной горы, каменистая полынно-мордовниковая степь (А). 49. *Asparagus officinalis* L. Вершина Ледяной горы, край карстовой воронки, пойма р. Сылвы (А, Б). 50. *Convallaria majalis* L. Сосновые посадки (Б). 51. *Maianthemum bifolium* (L.) F.W. Schmidt. Сосновые посадки, обочина тропинки в березовом лесу (А, Б). 52. *Paris quadrifolia* L. Обочина тропинки в сосновом лесу (Б). 53. *Polygonatum odoratum* (Mill.) Druce. Березовый лес, карстовая воронка (А, Б).

Семейство *Orchidaceae* – Орхидные

54. *Cephalanthera rubra* (L.) Rich. Карстовая воронка с березой, склон березового лога (А, Б, Д). 55. *Epipactis atrorubens* (Hoffm. ex Bernh.) Bess. Склон березового лога (Б). 56. *Epipactis helleborine* (L.) Crantz. Склон березового лога (Б).

Семейство *Salicaceae* – Ивовые

57. *Populus tremula* L. Пойма р. Сылвы (Б). 58. *Salix caprea* L. Пойма р. Сылвы (Б). 59. *Salix dasyclados* Wimm. Карстовая воронка, склон южной экспозиции (Б). 60. *Salix myrsinifolia* Salisb. Берег р. Сылвы (Б). 61. *Salix triandra* L. Берег р. Сылвы (Б).

Семейство *Betulaceae* – Берёзовые

62. *Alnus incana* (L.) Moench. Заболоченная карстовая воронка (Б). 63. *Betula pendula* Roth. Медвежий лог (Б).

Семейство *Fagaceae* – Буковые

64. *Quercus robur* L. Медвежий лог, пойма р. Сылвы (Б).

Семейство *Urticaceae* – Крапивные

65. *Urtica dioica* L. Берег р. Сылвы, пустырь возле дороги (Б, В).

Семейство *Moraceae* – Туговые

66. *Humulus lupulus* L. Пойма р. Сылвы (Б).

Семейство *Santalaceae* – Санталовые

67. *Thesium ebracteatum* Haune. Вершина Ледяной горы, понижение среди березовых колков (А, Б).

Семейство *Aristolochiaceae* – Кирказоновые

68. *Asarum europaeum* L. Карстовая воронка (А, Б).

Семейство *Polygonaceae* – Гречишные

69. *Polygonum aviculare* L. Берег р. Сылвы (А, Б). 70. *Polygonum persicaria* L. Пойма р. Сылвы (Б). 71. *Polygonum bistorta* Delarbre. Пойма р. Сылвы (Б). 72. *Rumex acetosella* L. Карстовая воронка (А, Б, В). 73.

Rumex aquaticus L. Берег р. Сылвы (Б). 74. *Rumex crispus* L. Пойма р. Сылвы, мезофильный луг, пустырь возле дороги (Б).

Семейство *Chenopodiaceae* – Маревые

75. *Chenopodium rubrum* L. Обочина дороги (Б). 76. *Chenopodium strictum* Roth. Обочина дороги (Б).

Семейство *Caryophyllaceae* – Гвоздичные

77. *Dianthus deltoids* L. Разнотравный луг, овсецово-мордовниковая степь (Б). 78. *Dianthus versicolor* Fisch. ex Link. Овсецово-мордовниковая степь, сосновые посадки (Б). 79. *Gypsophila altissima* L. Каменистые известняковые склоны, сосновые посадки, пойма р. Сылвы (Б, В, Ж). 80. *Melandrium album* (Mill.) Garcke. Разнотравный луг, высокая равнина (Б). 81. *Silene baschkirorum* Janisch. Разнотравный луг, над входом в пещеру (А, Б). 82. *Silene nutans* L. Березовый лог, выходы известняков (Б). 83. *Silene vulgaris* (Moench) Garcke. Обочина дороги (Б). 84. *Silene wolgensis* (Hornem.) Besser ex Spreng. Склон южной экспозиции, луг с нарушенным почвенным покровом (А, Б). 85. *Stellaria graminea* L. Сосновые посадки, берег р. Сылвы, разнотравно-ковыльная степь (Б, В). 86. *Stellaria media* (L.) Vill. Березовый лог, сосновые посадки (Б). 87. *Viscaria vulgaris* Bernh. Карстовая воронка посреди ковыльной степи (Б).

Семейство *Nymphaeaceae* – Кувшинковые

88. *Nuphar lutea* (L.) Sm. Прибрежная зона р. Сылвы (Б).

Семейство *Ranunculaceae* – Лютиковые

89. *Actaea spicata* L. Сосновые посадки (Б). 90. *Anemone sylvestris* L. Окраина сосновых посадок, лесостепной склон (Б). 91. *Anemone uralensis* Fisch. ex DC. Основание Ледяной горы, в ивняке по берегу р. Сылвы (А. Прим.: образец утерян). 92. *Aquilegia vulgaris* L. Сосновые посадки (Б). 93. *Ranunculus repens* L. Пойма р. Сылвы (Б). 94. *Ranunculus polyanthemos* L. Пустырь возле дороги, склон южной экспозиции, обочина грунтовой дороги, сосновый лес (Б). 95. *Ranunculus acris* L. Склон южной экспозиции, обочина грунтовой дороги, сосновый лес (Б). 96. *Thalictrum minus* L. Опушка возле сосновых посадок, остепененный склон (Б, В). 97. *Thalictrum simplex* L. Березовый лес (Б).

Семейство *Berberidaceae* – Барбарисовые

98. *Berberis vulgaris* L. Сосновые посадки, вдоль тропинок (Б).

Семейство *Brassicaceae* – Крестоцветные

99. *Arabis borealis* Andrz. Березовый колок на вершине горы (А, Б). 100. *Arabis sagittata* (Bertol) DC. Ковыльная степь (Б). 101. *Berteroa incana* (L.) DC. Ковыльная степь, край карстовой воронки (Б). 102. *Brassica campestris* L. Возле линий электропередач, участок с нарушенным почвенным покровом (Б). 103. *Bunias orientalis* L. Возле линий электропередач, пустырь возле дороги (Б). 104. *Camelina microcarpa* Andrz. Овсецовая каменистая степь (Б). 105. *Capsella bursa-pastoris* (L.) Medikus. Обочины грунтовой дороги, луг (Б). 106. *Descurainia sophia* (L.) Webb ex. Высокая равнина (А, Б). 107. *Draba nemorosa* L. Склон южной экспозиции, овсецово-мордовниковая каменистая степь (А, Б). 108. *Erysimum hieracifolium* L. Овсецово-мордовниковая каменистая степь (Б). 109. *Sinapis arvensis* L. Разнотравный луг возле сосновых посадок (А, Б). 110. *Sisymbrium officinale* (L.) Scop. Берег р. Сылвы (А, Б). 111. *Turritis glabra* L. Высокая равнина. Овсецово-мордовниковая каменистая степь (А, Б).

Семейство *Crasullaceae* – Толстянковые

112. *Sedum acre* L. Каменистые обнажения на склонах южной экспозиции (А, Б, В, Ж).

Семейство *Saxifragaceae* – Камнеломковые

113. *Grossularia uva-crispa* (L.) Mill. Сосновые посадки (Б). 114. *Ribes nigrum* L. Берег р. Сылвы (А, Б).

Семейство *Rosaceae* – Розовые

115. *Agrimonia eupatoria* L. Карстовая воронка (А, Б). 116. *Alchemilla vulgaris* L. Разнотравный луг, пустырь возле дороги, склон южной экспозиции (Б, В). 117. *Alchemilla hirsuticaulis* H. Lindb. Луг (А). 118. *Alchemilla subcrenata* Buser. Высокая равнина (А). 119. *Amelanchier ovalis* Medikus. Сосновые посадки, пойма р. Сылвы (А, Б). 120. *Amelanchier spicata* (Lam.) K. Koch. Карстовая воронка, склон южной экспозиции (Б). 121. *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. Карстовая воронка на высокой равнине (А, Б). 122. *Filipendula vulgaris* Moench. Западный склон Медвежьего лога, опушка искусственных насаждений сосны (А, Б). 123. *Fragaria vesca* L. Сосновые посадки, разнотравный луг возле грунтовой дороги (Б, В). 124. *Fragaria viridis* (Duchesne) Weston. Разнотравный луг, сосновые посадки (Б). 125. *Geum urbanum* L. Опушка вблизи с сосновыми посадками (Б). 126. *Geum aleppicum* Jacq. Средняя часть лога (Б). 127. *Geum rivale* L. Разнотравный луг, возле карстовых воронок (Б). 128. *Malus domestica* Borkh. Пойма р. Сылвы (Б). 129. *Malus sylvestris* Mill. Сосновые посадки (Б). 130. *Padus avium* Mill. Сосновые посадки (Б). 131. *Potentilla anserina* L. Разнотравный луг, обочина грунтовой дороги, берег р. Сылвы (Б, В). 132. *Potentilla argentea* L. Разнотравный луг, обочина грунтовой дороги, склон южной экспозиции (Б, В). 133. *Potentilla chrysantha* Trevir. Вершина Ледяной горы среди берез (А, Б). 134. *Potentilla goldbachii* Rupr. Разнотравный луг у сосновых посадок (Б). 135. *Potentilla humifusa* Willd. ex Schtdl. Лог (А, Б, Ж). 136. *Potentilla intermedia* L. Берег р. Сылвы (А, Б). 137. *Potentilla thuringiaca* Bernh. Ex Link. Разнотравный луг, обочина грунтовой дороги (Б). 138. *Rosa acicularis* Lindl. Высокая равнина, сосновые посадки (А, Б). 139. *Rosa grabrifolia* С.А. Мей. Ex Rupr. Обочина грунтовой дороги (Б). 140. *Rosa majalis* Herrm. Край заболочен-

ной карстовой воронки, сосновые посадки (Б). 141. *Rubus caesius* L. Пойма р. Сылвы (Б). 142. *Rubus idaeus* L. Сосновые посадки (Б). 143. *Rubus saxatilis* L. Сосновые посадки (Б). 144. *Sanguisorba officinalis* L. Высокая равнина, березовый колок (А, Б). 145. *Sorbus aucuparia* L. Сосновые посадки (Б).

Семейство *Fabaceae* – Бобовые

146. *Astragalus austriacus* Jacq. Известковый склон юго-восточной экспозиции (А, Б). 147. *Astragalus danicus* Retz. Березовый лес, коренной склон р. Сылвы (А, Б, В, Ж). 148. *Astragalus sulcatus* L. Известняковые отложения (Б, В, Г, Ж). 149. *Caragana arborescens* Lam. Обочина грунтовой дороги, сосновые посадки (Б). 150. *Chamaecytisus ruthenicus* (Fisch. ex Woloszcz.) Klásk. Обочина дороги, пустырь, березовый лог (Б). 151. *Genista tinctoria* L. Склон каменистой степи (Б, В, Ж). 152. *Lathyrus pisiformis* L. Дно карстовой воронки (А, Б). 153. *Lathyrus pratensis* L. Лог, возле линий электропередач (А, Б, В). 154. *Lathyrus sylvestris* L. Склон южной экспозиции, большая карстовая воронка (А, Б). 155. *Lathyrus vernus* (L.) Bernh. Склон юго-восточной экспозиции (А, Б). 156. *Lotus corniculatus* L. Берег р. Сылвы (А, Б). 157. *Lupinus polyphyllus* Lindl. Обочина дороги (Б, Г). 158. *Medicago falcata* L. Сосновые посадки (Б). 159. *Medicago lupulina* L. Берег р. Сылвы, опушка вблизи сосновых посадок (А, Б). 160. *Medicago sativa* L. Разнотравно-злаковый луг (Б). 161. *Melilotus albus* Medik. Разнотравный луг, края карстовых воронок, пустырь возле дороги (Б). 162. *Melilotus officinalis* (L.) Pall. Разнотравный луг, пустырь возле дороги (Б). 163. *Onobrychis arenaria* (Kit.) DC. Склон восточной экспозиции (А, Б). 164. *Oxytropis pilosa* (L.) DC. Ложок над входом в Кунгурскую ледяную пещеру, исток лога (А, Б, Ж). 165. *Trifolium medium* L. Берег р. Сылвы (А, Б). 166. *Trifolium pratense* L. Разнотравно-злаковый луг (А, Б). 167. *Trifolium montanum* L. Сосновый и березовый лес, овсецово-ковыльная степь (Б). 168. *Trifolium repens* L. Разнотравный луг, пустырь возле дороги, обочина дороги (Б, В). 169. *Trifolium spadicum* L. Юго-восточный склон (А, Б). 170. *Vicia cracca* L. Высокая равнина, разнотравный луг рядом с дорогой (А, Б). 171. *Vicia sepium* L. Высокая равнина, березовый колок (А, Б). 172. *Vicia sylvatica* L. Сосновый посадки (Б). 173. *Vicia tenuifolia* Roth. Овсецово-ковыльная степь, сосновые посадки (Б).

Семейство *Geraniaceae* – Гераниевые

174. *Erodium cicutarium* (L.) L'Hér. Возле входа в ледяную пещеру (А, Б). 175. *Geranium pratense* L. Разнотравный луг возле дороги, под линиями электропередач (Б). 176. *Geranium sibiricum* L. Сосновые посадки, склон березового лога. (Б). 177. *Geranium sylvaticum* L. Березовый колок между двумя дорогами на высокой равнине (А, Б).

Семейство *Oxalidaceae* – Кислицевые

178. *Oxalis acetosella* L. Включения ельника в сосновых посадках (Б).

Семейство *Polygalaceae* – Истодовые

179. *Polygala comosa* Schkuhr. Склон западной экспозиции, выход известняков (А, Б). 180. *Polygala sibirica* L. Склон западной экспозиции, известняковые обнажения (А, Б, Д).

Семейство *Euphorbiaceae* – Молочайные

181. *Euphorbia gmelinii* Steud. Коренной склон реки Сылвы, каменистые обнажения (Б). 182. *Euphorbia microcarpa* Prokh. Склон южной экспозиции, остепененный луг (А, Б). 183. *Euphorbia subtilis* (Prokh.) Prokh. Коренной склон р. Сылвы, каменистые обнажения (Б). 184. *Euphorbia virgata* Waldst. & Kit. Склон южной экспозиции, коренной склон р. Сылвы, луга под ЛЭП (А, Б).

Семейство *Aceraceae* – Кленовые

185. *Acer negundo* L. Берег р. Сылвы (Б, Г).

Семейство *Vitaceae* – Виноградовые

186. *Parthenocissus quinquefolia* (L.) Planch. Обочина грунтовой дороги (А, Б).

Семейство *Malvaceae* – Мальвовые

187. *Lavatera thuringiaca* (L.) Vis. Разнотравный луг, возле тропинок, на нарушенных местах (Б).

Семейство *Elaeagnaceae* – Лоховые

197. *Hippophae rhamnoides* L. Склон восточной экспозиции, возле дороги (Б).

Семейство *Onagraceae* – Кипрейные

198. *Chamaenerion angustifolium* (L.) Scop. Заболоченная карстовая воронка, возле линий электропередач (Б). 199. *Epilobium montanum* L. Берег р. Сылвы (Б).

Семейство *Apiaceae* – Зонтичные

200. *Aegopodium podagraria* L. Сосновые посадки, дно карстовых воронок (Б, В). 201. *Angelica archangelica* L. Берег р. Сылва, заросли ивы (А, Б). 202. *Angelica sylvestris* L. Берег р. Сылвы (А, Б). 203. *Anthriscus sylvestris* (L.) Hoffm. Склон южной экспозиции, понижения возле выхода известняка (А, Б). 204. *Carum carvi* L. Обочина грунтовой дороги, вдоль тропинки при подъеме на Ледяную гору (А, Б). 205. *Cenolophium denudatum* (Hornem.) Tutin. Берег р. Сылвы (А, Б). 206. *Conium maculatum* L. Пустырь возле дороги (Б). 207. *Heracleum sosnovskyi* Manden. Дно карстовой воронки, опушка возле сосновых посадок, пустырь возле дороги (Б). 208. *Heracleum sibiricum* L. Дно карстовой воронки, возле тропинок в сосновых посадках (А, Б). 209. *Libanotis krylovii* V.Tichomirov. Склон южной экспозиции (Б). 210. *Pastinaca syl-*

vestris Mill. Берег р. Сылвы (А, Б). 211. *Pimpinella saxifraga* L. Сосновые посадки, обочины грунтовых дорог, берег р. Сылва (А, Б, В).

Семейство *Pyrolaceae* – Грушанковые

212. *Pyrola minor* L. Сосновые посадки (Б).

Семейство *Primulaceae* – Первоцветные

213. *Lysimachia vulgaris* L. Берег р. Сылвы (Б).

Семейство *Gentianaceae* – Горечавковые

214. *Gentiana cruciata* L. Разнотравный луг, ковыльняная степь (Б).

Семейство *Menyanthaceae* – Вахтовые

215. *Menyanthes trifoliata* L. Озеро в карстовой воронке на водоразделе (А, Б).

Семейство *Asclepiadaceae* – Ластовневые

216. *Vincetoxicum hirundinaria* Medik. Каменистые обнажения в небольшой ложбине (А, Б).

Семейство *Convolvulaceae* – Вьюнковые

217. *Calystegia sepium* (L.) R. Br. Берег р. Сылвы, заросли ивняка (Б). 218. *Convolvulus arvensis* L. Разнотравный луг, обочина грунтовой дороги (Б).

Семейство *Boraginaceae* – Бурачниковые

219. *Cynoglossum officinale* L. Ложок над входом в пещеру, южный остепненный склон, обочина дороги (А, Б). 220. *Lappula squarrosa* (Retz.) Dumort. Известняковые обнажения, коренной склон р. Сылвы (А, Б). 221. *Lithospermum officinale* L. Сосновые посадки (Б). 222. *Myosotis cespitosa* Schultz. Берег р. Сылвы (А, Б). 223. *Myosotis popovii* Dobrosz. Высокая равнина в западной окрестности горы, опушка искусственных лесопосадок (А). 224. *Nonea pulla* DC. Сосновые посадки, коренной склон (Б). 225. *Onosma simplicissima* L. Известняковые обнажения, остепненный склон (Б, В, Ж).

Семейство *Lamiaceae* – Губоцветные

226. *Ajuga reptans* L. Березовый лес (Б). 227. *Betonica officinalis* L. Склон березового лога, под линиями электропередач (А, Б). 228. *Dracocephalum ruyschiana* L. Овсцово-ковыльняная степь, остепненный склон (Б). 229. *Dracocephalum thymiflorum* L. Ковыльняная степь, склон южной экспозиции (Б). 230. *Glechoma hederaceae* L. Берег р. Сылвы (А, Б, В). 231. *Lamium album* L. Берег р. Сылвы (А, Б). 232. *Leonurus quinquelobatus* Gilib. Карстовая воронка на высокой равнине (А, Б). 233. *Mentha arvensis* L. Берег р. Сылвы (А, Б). 234. *Origanum vulgare* L. Карстовая воронка (А, Б). 235. *Phlomis tuberosa* (L.) Moench. Березовый лес, возле тропинок в сосновых посадках (Б). 236. *Prunella vulgaris* L. Высокая равнина, разнотравный луг, пустырь (А, Б, В). 237. *Salvia stepposa* Des.-Shost. Выход гипсов коренного берега р. Сылвы (А, Б, В, Ж). 238. *Scutellaria galericulata* L. Берег р. Сылвы (Б). 239. *Stachys palustris* L. Берег р. Сылвы (А, Б, В). 240. *Thymus bashkirensis* Klokov & Des.-Shost. Известняковые обнажения (Б, В. Прим.: В работе Н.П. Рычковой [1961] данный вид приводится как *Th. serpyllum* L.). 241. *Thymus uralensis* Klok. Лог справа от выхода из пещеры, средняя его часть, склон овсцово-ковыльняной степи (А, Б, Д. Прим.: ранее во многих работах указывался как *Thymus talijevii* Klok. et Shost.).

Семейство *Scrophulariaceae* – Норичниковые

242. *Euphrasia parviflora* Schag. Ковыльняная степь, склон южной экспозиции (Б). 243. *Linaria vulgaris* Mill. Разнотравный луг, вдоль грунтовой дороги (Б). 244. *Odontites vulgaris* Moench. Березовый лог (Б). 245. *Rhinanthus minor* L. Каменистые отложения (А, Б). 246. *Verbascum nigrum* L. Высокая равнина, дно карстовой воронки (А, Б). 247. *Verbascum thapsus* L. Овсцово-ковыльняная степь (Б). 248. *Veronica chamaedrys* L. Высокая равнина, разнотравный луг возле дороги, сосновые посадки (А, Б, В). 249. *Veronica longifolia* L. Дно карстовой воронки, разнотравный луг (Б). 250. *Veronica officinalis* L. Березовый лес на высокой равнине (А, Б, В). 251. *Veronica spicata* L. Высокая равнина (А, Б, В, Ж). 252. *Veronica teucrium* L. Склон южной экспозиции (Б).

Семейство *Plantaginaceae* – Подорожниковые

253. *Plantago lanceolata* L. Склон южной экспозиции (А, Б). 254. *Plantago media* L. Берег р. Сылвы (А, Б). 255. *Plantago major* L. Вдоль грунтовой дороги (Б).

Семейство *Rubiaceae* – Мареновые

256. *Galium boreale* L. По краю карстовой воронки (А, Б). 257. *Galium mollugo* L. Западный склон Медвежьего лога (А, Б). 258. *Galium palustre* L. По берегу р. Сылвы (А, Б).

Семейство *Caprifoliaceae* – Жимолостные

259. *Lonicera xylosteum* L. Сосновые посадки (А, Б). 260. *Lonicera tatarica* L. Склон возле центральной дороги (Б). 261. *Sambucus sibirica* Nakai. Березовый лес (Б). 262. *Viburnum opulus* L. Сосновые посадки (Б).

Семейство *Dipsacaceae* – Ворсянковые

263. *Knautia arvensis* (L.) J.M. Coult. Каменистые обнажения (А, Б).

Семейство *Cucurbitaceae* – Тыквенные

264. *Echinocystis lobata* (Michx.) Torr. & A. Gray. Берег р. Сылвы (Б).

Семейство *Campanulaceae* – Колокольчиковые

265. *Campanula bononiensis* L. Карстовая воронка (А). 266. *Campanula patula* L. Разнотравный луг, вы-

ходы каменистых и известняковых обнажений (Б). 267. *Campanula persicifolia* L. Березовый колок (А, Б). 268. *Campanula sibirica* L. Склоны восточной и южной экспозиции, карстовые воронки (А, Б, В, Ж).

Семейство Asteraceae – Сложноцветные

269. *Achillea millefolium* L. Разнотравный луг возле сосновых посадок, дно карстовой воронки на равнине (Б, В). 270. *Anthemis tinctoria* L. Сосновые посадки, склон южной экспозиции (Б, В, Ж). 271. *Arctium tomentosum* Mill. Берег р. Сылвы (А, Б). 272. *Artemisia macrantha* Ledeb. Полынная степь (Ж). 273. *Artemisia armeniaca* Lam. Полынная степь (Ж). 274. *Artemisia absinthium* L. Каменистые обнажения, склон южной экспозиции (А, Б). 275. *Artemisia sericea* Weber ex Stechm. Каменистые обнажения (А, Б, В, Ж). 276. *Artemisia latifolia* Ledeb. Степь на вершине, рядом с карстовой воронкой (Б, Ж). 277. *Artemisia frigida* Willd. Лог справа от выхода из пещеры (А, Б, В, Ж). 278. *Artemisia vulgaris* L. Пойма р. Сылвы, возле линий электропередач (А, Б). 279. *Aster alpinus* L. Обнажения гипсов и известняков, каменистая разнотравно-ковыльная степь (Б, В). 280. *Aster amellus* L. Ковыльно-овсецовая степь, коренной склон р. Сылвы, каменистые обнажения (Б). 281. *Bidens tripartita* L. Берег р. Сылвы (А, Б). 282. *Carduus crispus* L. Берег р. Сылвы (А, Б). 283. *Carlina biebersteinii* Bernh. ex Hornem. Березовый лес (Б). 284. *Centaurea cyanus* L. Высокая равнина (А, Б). 285. *Centaurea phrygia* L. Разнотравный луг, под линиями электропередач (Б). 286. *Centaurea scabiosa* L. Разнотравный луг, обочина грунтовой дороги (Б). 287. *Centaurea sibirica* L. Коренной склон реки Сылвы, выходы известняков (Б, В, Ж). 288. *Cichorium intybus* L. Пойма реки Сылвы (Б). 289. *Cirsium arvense* (L.) Scop. Карстовая воронка (А, Б). 290. *Cirsium heterophyllum* (L.) Hill. Обочина грунтовой дороги, возле линий электропередач (Б). 291. *Dendranthema zavadskii* (Herbich) Tzvel. Обнажения гипсов и известняков (Б, В). 292. *Echinops ruthenicus* M. Vieb. Овсецовая степь, коренной склон р. Сылвы, каменистые обнажения (А, Б, Ж). 293. *Hieracium caespitosum* Dumort. Ковыльная степь, склон южной экспозиции (Б). 294. *Hieracium pilosella* L. Ковыльная степь, склон южной экспозиции (Б, В). 295. *Inula britannica* L. Обочина грунтовой дороги (А, Б). 296. *Inula salicina* L. Ковыльно-овсецовая степь (Б). 297. *Leontodon autumnalis* L. Обочина грунтовой дороги (Б). 298. *Leucanthemum vulgare* Lam. Разнотравный луг, сосновые посадки (Б). 299. *Picris hieracioides* L. Разнотравный луг возле сосновых посадок, обочина грунтовой дороги (Б). 300. *Senecio integrifolius* (L.) Clairv. Разнотравный луг, склон южной экспозиции (А). 301. *Senecio jacobaea* L. Каменистые обнажения (А, Б). 302. *Symphotrichum* × *salignum* (Willd.) G.L. Nesom. Пойма р. Сылвы (Б). 303. *Solidago virgaurea* L. Березовый колок, склон южной экспозиции (А, Б). 304. *Tanacetum vulgare* L. В пойме р. Сылвы, обочина дороги (Б). 305. *Taraxacum officinale* F.H. Wigg. Обочина грунтовой дороги, опушка возле сосновых посадок, сосновый и березовый лес (Б). 306. *Tripleurospermum inodorum* (L.) Sch. Bip. Берег р. Сылвы, обочина дороги (А, Б). 307. *Trommsdorffia maculata* (L.) Bernh. Разнотравный луг (Б). 308. *Tussilago farfara* L. Обочина грунтовой дороги, берег р. Сылвы (Б).

Заключение

Всего на территории ООПТ «Ледяная гора и Кунгурская ледяная пещера» отмечено 308 видов сосудистых растений, относящихся к 190 родам и 58 семействам. По данным, опубликованным до 2020 г., а также данным научного гербария Пермского университета (PERM), для исследуемой территории указывалось 149 видов растений, наличие большей части которых было подтверждено в ходе проведенной работы. Список видов значительно дополнен в сравнении с предыдущими исследованиями. Впервые опубликованный конспект для такой территории – еще один шаг в исследовании флористической составляющей ООПТ Пермского края [Овеснов, Ефимик, 2018; Ефимик, Овеснов, 2022].

Для территории ООПТ «Ледяная гора и Кунгурская ледяная пещера» указаны три вида, которые включены в Красную книгу Пермского края [2018]: *Stipa pennata* (III категория редкости), *Cephalanthera rubra* (III категория редкости), *Anemone uralensis* (II категория редкости). Пыльцеголовник красный и ветреница уральская также занесены в Красную книгу Российской Федерации [Об утверждении ..., 2023]. Ковыль перистый (*Stipa pennata*) впервые был указан в 1961 г. в работе Н.Н. Рычковой «Ботаническая характеристика участка над Кунгурской ледяной пещерой». В 1982 г. Н. Чуприна (по данным Гербария PERM) впервые отметила наличие *Cephalanthera rubra* в пределах Ледяной горы. Наличие этих видов подтверждается до настоящего времени, и нами они также обнаружены. *Anemone uralensis* отмечается на основании гербарного образца, собранного С.И. Шиловой, но повторно при полевых исследованиях до настоящего времени не обнаружена. Также нами отмечены растения, которые занесены в Приложение к Красной книге Пермского края [2018]: *Helianthemum nummularium*, *Polygala sibirica*, *Epipactis atrorubens*, *E. helleborine*, *Helictotrichon schellianum*, *Quercus robur*, *Astragalus sulcatus*, *Aster alpinus*.

Большой туристический поток оказывает серьезную нагрузку на растительные сообщества Ледяной горы и накладывает отпечаток на состав растительных сообществ. На территории ООПТ «Ледяная гора и Кунгурская ледяная пещера» в составе флоры отмечено значительное количество синантропных видов растений, что говорит о высокой степени антропогенной трансформации фитоценозов Ледяной горы. Кроме того, на территории обнаружены инвазивные виды растений, такие как *Acer negundo*, *Amelanchier spicata*, *Heracleum sosnowskyi*, *Caragana arborescens*, *Lupinus polyphyllus*, *Echinocystis lobata*, *Hippophae*

rhamnoides и некоторые другие. За период наших наблюдений отмечено не только увеличение количества инвазивных видов, но и расширение площади, занимаемой этими видами. Высокий процент синантропных (в том числе инвазивных) видов объясняется близостью города, большим количеством посетителей Ледяной пещеры, высоким транспортным потоком, наличием линий электропередач, проселочных дорог и многочисленных тропинок, нарушенных биотопов, несанкционированных мест отдыха и свалок. Все это представляет серьезную угрозу для существования уникальных лесостепных сообществ и охраняемых и редких растений ООПТ «Ледяная гора и Кунгурская ледяная пещера».

Список источников

1. Атлас особо охраняемых природных территорий Пермского края / под ред. С.А. Бузмакова. Пермь: Астер, 2017. 512 с.
2. Владыкина А.В. Флора и растительность ООПТ «Ледяная гора и Кунгурская Ледяная пещера» (Пермский край) // Фундаментальные и прикладные исследования в биологии и экологии, Пермь, 2021. С. 13–16.
3. Горчаковский П.Л. Основные проблемы исторической фитогеографии Урала. Свердловск, 1969. 286 с.
4. Ефимик Е.Г., Овеснов С.А. Итоги и перспективы изучения биоразнообразия сосудистых растений на особо охраняемых природных территориях // Исследования в области ботаники, генетики и микологии: материалы Всерос. науч. конф., посвященной 105-летию кафедры ботаники и генетики растений ПГНИУ и памяти заслуженных профессоров ПГНИУ В.А. Верещагиной и Е.И. Демьяновой. Пермь, 2022. С. 13–18.
5. Иллюстрированный определитель растений Пермского края / под ред. С.А. Овеснова. Пермь: Кн. мир, 2007. 743 с.
6. Корчагин А.А. Видовой (флористический) состав растительных сообществ и методы его изучения // Полевая геоботаника. М.; Л., 1964. Т. 3. С. 39–62.
7. Красная книга Пермского края / под общ. ред. М.А. Бакланова. Пермь: Алдари, 2018. 232 с.
8. Методы изучения лесных сообществ. СПб.: НИИХимии СПбГУ, 2002. 240 с.
9. Наумкин Д.В., Кадебская О.И. Изучение биоразнообразия ООПТ «Ледяная гора и Кунгурская ледяная пещера» // Известия Самарского научного центра РАН, 2009. Т. 11, № 1 (3). С. 441–444.
10. Об утверждении Перечня объектов растительного мира, занесенных в Красную книгу Российской Федерации. Приказ Министерства природных ресурсов и экологии Российской Федерации от 23 мая 2023г., № 320.
11. Овеснов С.А. Ботанико-географическое районирование Пермской области // Вестник Пермского университета. 2000. Вып. 2. Биология. С. 13–21.
12. Овеснов С.А. Кунгурская лесостепь: феномен или фантом? // Ботанические исследования на Урале: материалы регион. с междунар. участием науч. конф. Пермь, 2009. С. 270–275.
13. Овеснов С.А., Ефимик Е.Г. Изучение биоразнообразия растений на особо охраняемых природных территориях // Экология и география растений и растительных сообществ: материалы IV Междунар. науч. конф. Екатеринбург, 2018. С. 625–629.
14. Рычкова Н.Н. Ботаническая характеристика участка над Кунгурской ледяной пещерой // Охрана природы на Урале. Пермь, 1961. Вып. 2. С. 155–159.
15. Толмачев А.И. Изучение флоры при геоботанических исследованиях // Полевая геоботаника. М.; Л., 1959. Т. 1. С. 369–383.

References

1. Buzmakov S.A., ed. *Atlas osobo ochranjaemykh prirodnykh territorij Permskogo kraja* [Atlas of specially protected natural areas of Perm Krai]. Perm, Aster Publ., 2017. 512 p. (In Russ.).
2. Vladykina A.V. [Flora and vegetation of the protected area "Ice Mountain and Kungur Ice Cave" (Perm Krai)]. *Fundamental'nye i prikladnye issledovaniya v biologii i èkologii* [Fundamental and applied research in biology and ecology]. Perm, 2021, pp. 13-16. (In Russ.).
3. Gorchakovskij P.L. *Osnovnye problemy istoricheskoy fitogeografii Urala*. [The main problems of the historical phytogeography of the Urals]. Sverdlovsk: RISO UFAN SSSR. 1969. 286 p. (In Russ.).
4. Efimik E.G., Ovesnov S.A. [Results and prospects of studying the biodiversity of vascular plants in specially protected natural areas]. *Issledovaniya v oblasti botaniki, genetiki i mikologii* [Research in the field of botany, genetics and mycology. Materials of the All-Russian Scientific Conference dedicated to the 105th anniversary of the Department of Botany and Plant Genetics of PSNIU and the memory of Honored Professors of PSNIU V.A. Vereshchagina and E.I. Demyanova]. Perm, 2022, pp. 13-18. (In Russ.).
5. Ovesnov S.A., ed. *Illjustrirrovannyj opredelitel' rastenij Permskogo kraja* [Illustrated Key of Plants of Perm Region]. Perm, Knizhnyi Mir Publ., 2007. 743 p. (In Russ.).

6. Korchagin A.A. [Species (floristic) composition of plant communities and the methods of its investigation]. *Polevaja geobotanika* [Field geobotany]. Moscow, Leningrad, Nauka Publ., 1964, V. 3, pp. 39-62. (In Russ.).
7. Baklanov M.A., ed. *Krasnaya kniga Permskogo kraja* [The Red Data Book of the Perm Region]. Perm, Aldari Publ., 2018. 232 p. (In Russ.).
8. *Metody izučeniya lesnykh soobščestv* [Methods of studying forest communities]. St-Peterburg, NIChimii SPBGU Publ., 2002. 240 p. (In Russ.).
9. Naumkin D.V., Kadebskaya O.I. [Studying the biodiversity of the protected area "Ice Mountain and Kungur ice cave"]. *Izvestija Samarskogo naučnogo centra RAN*. V. 11, No. 1(3) (2009): pp. 441-444. (In Russ.).
10. *Ob utverždenii Perečnja ob'ektov rastitel'nogo mira, zanesennykh v Krasnuju knigu Rossijskoj Federacii* [On approval of the List of flora objects listed in the Red Book of the Russian Federation. Order of the Ministry of Natural Resources and Ecology of the Russian Federation No. 320 dated 05/23/2023]. (In Russ.).
11. Ovesnov S.A. [Botanical and geographical zoning of the Perm region]. *Vestnik Permskogo universiteta*. Iss. 2 (2000): pp. 13-21. (In Russ.).
12. Ovesnov S.A. [Kungur forest-steppe: a phenomenon or a phantom?]. *Botaničeskie issledovanija na Urale* [Botanical research in the Urals. Materials of a regional scientific conference with international participation dedicated to the memory of P.L. Gorchakovskiy]. Perm, 2009, pp. 270-275. (In Russ.).
13. Ovesnov S.A., Efimik E.G. [Study of plant biodiversity in specially protected natural areas]. *Èkologija i geografija rastenij i rastitel'nykh soobščestv* [Ecology and geography of plants and plant communities, Proceedings of the IV International Scientific Conference]. Ekaterinburg, 2018, pp. 625-629. (In Russ.).
14. Rychkova N.N. [Botanical characteristics of the site above the Kungur ice cave]. *Očrana prirody na Urale* [Nature protection in the Urals]. Perm, 1961, iss. 2, pp. 155-159. (In Russ.).
15. Tolmachev A.I. [Floristic studies in the course of the geobotanical investigations]. *Polevaja geobotanika* [Field geobotany]. Moscow, Leningrad, AN SSSR Publ., 1959, V. 1, pp. 369-383. (In Russ.).

Статья поступила в редакцию 11.09.2023; одобрена после рецензирования 29.09.2023; принята к публикации 02.10.2023.

The article was submitted 11.09.2023; approved after reviewing 29.09.2023; accepted for publication 02.10.2023.

Информация об авторах

Е. Г. Ефимик – канд. биол. наук, доцент кафедры ботаники и генетики растений;

А. В. Владыкина – магистрант кафедры ботаники и генетики растений.

Information about the authors

E. G. Efimik – candidate of biological sciences, associate professor of the Department of Botany and Plant Genetics;

A. V. Vladykina – Master of the Department of Botany and Plant Genetics.

Вклад авторов:

Ефимик Е. Г. – проведение исследования; написание исходного текста; итоговые выводы, доработка текста.

Владыкина А. В. – проведение исследования; написание исходного текста; итоговые выводы.

Contribution of the authors:

Efimik E. G. – conducting research; writing the draft; final conclusions, following revision of the text.

Vladykina A. V. – conducting research; writing the draft; final conclusions.

ЗООЛОГИЯ

Научная статья

УДК 599.6/.73; 599.74

doi: 10.17072/1994-9952-2023-3-227-234.

Охотничье-промысловые звери, обитающие в заповеднике «Басеги» на границах ареалов

Виктор Валерьевич Семенов

Государственный заповедник «Басеги», Гремячинск, Пермский край, Россия, zbasegi@mail.ru

Аннотация. Приводится комплексный анализ многолетних рядов наблюдений по фактам регистрации и учётам численности на территории заповедника «Басеги» (Средний Урал, Пермский край) пяти видов и одной гибридной формы охотничье-промысловых животных (северный олень, сибирская косуля, россомаха, соболь, кидус, колонок), зарегистрированных в этом районе вблизи границ своих ареалов. Основой для работы послужили результаты зимних маршрутных учётов и данные научной картотеки заповедника, полученные за 40 лет исследований (1984–2023 гг.). Обобщая эти материалы, автор статьи делает выводы о современном состоянии поголовья этих зверей в Басегах, возможных перспективах изменения границ их ареалов, оптимальных способах оценки плотности популяций в условиях горной тайги Среднего Урала. Судя по данным многолетних наблюдений, северный олень в районе заповедника «Басеги» в настоящее время не встречается. Сибирская косуля является очень редким видом, периодически заходящим на охраняемую территорию в бесснежное время года. Соболь и кидус также редки, но ситуация с этими представителями рода *Martes* в заповеднике не ясна и требует применения дополнительных методов исследования. Россомаха и колонки в Басегах немногочисленны, но обитают постоянно.

Ключевые слова: северный олень, сибирская косуля, россомаха, соболь, кидус, колонок, виды на границе ареала, плотность популяции, численность, зимние маршрутные учёты, экспертная оценка, расчётные показатели

Для цитирования: Семенов В. В. Охотничье-промысловые звери, обитающие в заповеднике «Басеги» на границах ареалов // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2023. Вып. 3. С. 227–234. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2023-3-227-234>.

Благодарности: работа выполнена в рамках госзадания ФГБУ "Государственный заповедник "Басеги".

ZOOLOGY

Original article

Hunting and commercial animals living in the reserve "Basegi" on the borders of the areas

Viktor V. Semenov

Basegi State Reserve, Gremyachinsk, Perm Krai, Russia, zbasegi@mail.ru

Abstract. The article provides a comprehensive analysis of long-term series of observations on the facts of registration and population records on the territory of the Basegi Reserve (Middle Urals, Perm Krai) of five species and one hybrid form of hunting and commercial animals (reindeer, Siberian roe deer, wolverine, sable, kidus, columns) registered in this area near the borders of their areas. The basis for the work was the results of winter route records and data from the scientific card index of the Basegi Reserve, obtained over 40 years of research (1984–2023). Summarizing these materials, the author connects them with the results of his own field observations of 1989, 1999–2023 and draws conclusions about the current state of the livestock of these animals in the Basegas, possible prospects for changing the boundaries of their ranges, optimal ways to assess population density in the conditions of the mountain taiga of the Middle Urals. Judging by the data of long-term observations, reindeer are not currently found in the area of the Basegi Reserve. The Siberian roe deer is a very rare species that periodically enters the protected area during the snowless season. Sable and kidus are also rare, but the situation with these representatives of the genus *Martes* in the reserve is unclear and requires the use of additional research methods. Wolverine and columns are not numerous in Basegas, but they live constantly.

Keywords: reindeer, Siberian roe deer, wolverine, sable, kidus, column, species on the border of the range, population density, number, winter route records, expert assessment, calculated indicators

For citation: Semenov V. V. [Hunting and commercial animals living in the reserve "Basegi" on the borders of the ranges]. *Bulletin of Perm University. Biology*. Iss. 3 (2023): pp. 227-234. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2023-3-227-234>.

Acknowledgments: the work was carried out within the framework of the state task of the Federal State Budgetary Institution "Basegi State Reserve".

Введение

В рамках многолетней исследовательской темы заповедника «Басеги» – «Оптимизация учётов численности охотничье-промысловых животных и оценка влияющих на них факторов среды» особый интерес представляют виды, обитающие на данной охраняемой территории вблизи границ ареалов. Они наиболее чутко реагируют на перемену внешних факторов соответствующими флуктуациями численности и изменениями границ расселения.

С момента основания (1982 г.) на территории заповедника «Басеги» были зарегистрированы пять видов и одна гибридная форма промысловых зверей, обитающих на данной особо охраняемой территории (ООПТ) в непосредственной близости от естественных рубежей своего расселения. Дикий северный олень однократно регистрировался, а россомаха постоянно обитает в Басегах вблизи крайней южной границы ареала в Уральских горах. Соболь и соответственно кидус (гибрид соболя с лесной куницей) распространены в заповеднике на крайнем западе ареала и южном рубеже расселения в Уральских горах. Сибирская косуля периодически отмечается в Басегах на крайнем северном рубеже западной части своего ареала. Сибирский колонок, граница области расселения которого, полностью захватывает район заповедника и простирается дальше к северу и западу на 200–300 км, обитает на охраняемой территории вблизи крайнего северного рубежа зоны своего комфортного существования в Уральских горах. Дальше к северу этот зверёк становится очень редким, вероятно, из-за резко возрастающего хищнического пресса со стороны многочисленного соболя.

В данной работе приводится описание многолетней динамики состояния поголовья перечисленных видов животных в заповеднике «Басеги» и на прилегающих территориях Северного и Среднего (Горнозаводского) Урала.

Материал и методика

Основой для данной работы послужил анализ многолетних данных научной картотеки заповедника «Басеги» и материалы зимних маршрутных учётов (ЗМУ), ежегодно проводимых на данной ООПТ в соответствии с действующими методиками [Приклонский, 1972; Методические рекомендации..., 2009, 2014], на протяжении 40 лет (1984–2023 гг.). Помимо этого, были проанализированы некоторые материалы, опубликованных по теме исследования в предшествующие годы [Кичигаев, Бояршинов, 1986; Кичигаев, Курулюк, 2000, 2001; Курулюк, 2007].

В разделах, посвящённых дикому северному оленю, соболю, кидусу и колонку, использованы также результаты собственных полевых наблюдений автора, проведённых в 1989, 1999–2017 гг. на пермской части Северного Урала (западный макросклон) в верховьях р. Яйвы и на территории заповедника «Вишерский». Эти материалы, отражённые в полевых дневниках и личном фото-видео архиве, не публиковались.

Результаты и их обсуждение

Северный олень в заповеднике «Басеги» и на прилегающих территориях Северного Урала

За время существования заповедника присутствие данного вида в Басегах было зарегистрировано лишь однажды, летом 1986 г. В картотеке научного отдела имеется запись о встрече, которая была сделана с чужих слов, оформлена без указания точной даты и даже месяца наблюдения.

На территории заповедника «Вишерский» (220–300 км севернее Басегов) дикий северный олень обитает постоянно и не представляет редкости. По наблюдениям автора в снежные периоды (с конца октября по май) 2005–2017 гг. совокупная численность поголовья данного вида ежегодно измерялась десятками особей. Число зверей в отдельных группах, кочующих по вершинам гор Вишерского Урала, колебалось от 6–9 до 40–70 и более особей. В отдельные зимние сезоны совокупное число диких и одичавших северных оленей в этом районе значительно превышало 150 голов. Так, в марте 2011 г. на хр. Молебный Камень автором статьи было зарегистрировано компактно расположившееся на горной седловине стадо численностью более 200 особей.

Ближайшим к территории заповедника «Басеги» районом Пермского края, где автором в августе 1989 г. достоверно регистрировались следы пребывания диких северных оленей (свежие отпечатки ко-

пыт и помёт), являлся обширный и в то время ещё не нарушенный вырубками таёжный массив в среднем течении р. Абия (приток р. Яйвы). Этот район расположен в примерно в 90 км севернее Басегов.

Сибирская косуля в заповеднике «Басеги»

Граница основного ареала данного вида по Среднему Уралу проходит несколько южнее и восточнее Басегов, по сопредельным районам Свердловской обл. [Lissofsky, Sheftel, Stakheev..., 2018]. Заходы косуль на земли заповедника за период с 1984 по 2023 гг. были отмечены всего шесть раз. Первый цикл повышенной частоты таких встреч (три регистрации за три года наблюдений) пришёлся на конец 1980-х – 1991 гг. (табл. 1). Затем последовала продолжительная пауза (1992–2015 гг.), в течение которой сибирских косуль на заповедной территории не отмечали. В подгольцовой зоне на южном склоне г. Северный Басег научным сотрудником Д.В. Наумкиным 24.08.2015 г. были визуально обнаружены самец и самка данного вида (вероятно, гонная пара). Молодой самец косули 4.08.2022 г. был сфотографирован автономной камерой – фотоловушкой – на лесной дороге возле кордона «Южный». Ещё один самец косули был визуально отмечен заместителем директора по охране заповедника А.П. Вагановым в ходе автомобильного патрулирования территории на дороге возле р. Большой Басег 10.06.2023 (табл. 1).

Таблица 1

Регистрации сибирской косули в заповеднике «Басеги» по материалам научной картотеки
[Registration of Siberian roe deer in the reserve "Basegi" based on the materials of the scientific file]

Дата встречи	Место встречи	Описание встречи
9.05.1988	86 кв. Ручей по р. Неустроевке, пересечение с дорогой	Следы на дороге
15.05.1988	96 кв. Дорога за р. Большой Басег	Визуально взрослое животное, пол не опр.
7.06.1991	Пересечение р. Большой Басег с границей заповедника	Следы 1 особи
24.08.2015	24 кв., горные луга и редколесья возле научного стационара на южном склоне г. Северный Басег	Визуально самец и самка (вероятно, гонная пара). В предшествующий день – их крики на подслух.
4.08.2022	Лесная дорога возле к. Южный	1 молодой самец сфотографирован фотоловушкой
10.06.2023	115 кв. Подъезд по дороге к р. Большой Басег	1 самец шёл по лесной дороге

На протяжении всего периода наблюдений сибирская косуля в Басегах была и остаётся исключительно редким видом, периодически заходящим в заповедник с сопредельной территории Свердловской обл. в бесснежное время года. Постоянно обитать на западном макросклоне Среднего Урала этот зверь не может из-за критически большой высоты снежного покрова [Линейцев, 2012].

Росомаха в заповеднике «Басеги»

Территория заповедника «Басеги» располагается в непосредственной близости от южного рубежа постоянного обитания вида в Уральских горах, хотя на прилегающих к Уралу территориях единичные случаи регистраций росомахи после 1999 г. имели место до широты г. Екатеринбург [Lissofsky, Sheftel, Stakheev..., 2018]. На охраняемой территории заповедника «Басеги» и в прилегающих к ней районах этот зверь является малочисленным, но постоянно присутствующим крупным хищником. Несомненно, росомаха обитает на Горнозаводском Урале на протяжении длительного периода времени, что косвенно подтверждается отражением названия вида в местной топонимике. На топографических картах верховий р. Усьвы указаны г. Россомашная и р. Россомашка.

За 40 лет наблюдений (1984–2023 гг.) сотрудники заповедника отмечали росомах визуально 20 раз. Эти встречи проходили в разные сезоны, во все периоды функционирования заповедника, за исключением первых трех лет и 5-летнего периода 1997–2001 гг. В период с 1987 по 1991 гг. была зарегистрирована 1 встреча; с 1992 по 1996 гг. – 2; с 2002 по 2006 гг. – 1; с 2007 по 2011 гг. – 3; с 2012 по 2017 гг. – 7; и с 2018 по 2023 гг. – 6 встреч.

Судя по имеющимся данным, начиная с 2007 г. прослеживается тенденция к увеличению числа визуальных контактов с росомахой. Возможно, это стало следствием роста интенсивности и протяжённости автомобильного патрулирования по лесным дорогам, на которых чаще всего и происходили встречи с этим животным. Расчётные данные ЗМУ 1984–2023 гг. демонстрируют несколько иную, более равномерную по периодам существования ООПТ динамику плотности населения вида.

Дважды (13.05.2015 г. и 26.09.2020 г.) сотрудниками заповедника было визуально отмечено преследование росомахой зайца, а 14.10.2022 г. по многочисленным следам на верховом болоте, в 1.5–2.5 км к юго-востоку от кордона «Счастливый» автором был зарегистрирован случай неудачной охоты росомахи

на стоявшую в этом районе пару лосей. В контексте тематики настоящей статьи особый интерес представляет визуальная встреча с росомхой, произошедшая 03.07.2022 г. на автомобильной дороге общего пользования между пос. Юбилейный и Безгодovo (в 30 км к западу от осевой линии хр. Басеги). Данный факт подтверждает присутствие этого зверя на сопредельных с заповедником предгорных участках.

В плане экспертной оценки обилия росомх на ООПТ показателен единственный на данный момент случай съёмки этих зверей фотоловушками, зафиксированный в марте 2023 г. Две автономные камеры, установленные на небольшом расстоянии друг от друга на заснеженном русле р. Неустроевки вблизи одноимённого кордона, в течение трёх дней запечатлели двух росомх, чётко отличавшихся окраской меха. Одна особь, зарегистрированная 10.03.2023 г. (две видеозаписи в 8:15:55 и 8:16:11 утра), имела однотонный тёмно-бурый, почти чёрный окрас. Второе животное, снятое на камеру 13.03.2023 г. (две видеозаписи 11:40:25 и 11:40:50), имело чётко выраженную широкую и более светлую круговую окантовку меха, расположенную по хвосту вокруг оснований задних лап и по нижнему краю боков туловища. Интересно отметить, что по расчётным данным ЗМУ в зимний период 2023 г. показатель абсолютной численности росомхи в заповеднике составил 0.34 особи, то есть был существенно занижен по сравнению с фактической численностью присутствовавших в это время на ООПТ зверей (не менее 2 особей).

В периоды проведения ЗМУ 1984–2023 гг., свежие суточные переходы росомх попадались учётчикам на маршрутах далеко не каждый год. По этой причине вид выпадал из расчётов плотности населения охотничье-промысловых зверей заповедника почти в половине зимних сезонах (18 из 40): в 1985, 1990, 1992, 1993, 1995–1997, 2000, 2002, 2004, 2007, 2009, 2011–2015, 2021 гг. С учётом этих «пустых» периодов усреднённый показатель многолетней плотности зимнего населения росомхи составил 0.009 ос./1 000 га. Соответственно, усреднённый запас вида на ООПТ (расчётное абсолютное число особей на 38 000 га заповедной территории) – 0.34 особи. Учитывая, что в «пустые сезоны» учётчики нередко отмечали присутствие росомхи в заповеднике по старым (более суточной давности) следам, эти цифры представляются заниженными. Максимальное значение плотности населения вида (0.08 ос./1 000 га) и его абсолютной численности на ООПТ (3 ос./ 38 000 га) было отмечено в 1984 г. (первый год проведения ЗМУ). Высокие значения данных расчётных показателей отмечались также в 1987 (0.03/1.14), 2006 (0.03/1.14), 2008 (0.02/0.76), 2017 (0.03/1.14), 2018 (0.04/1.5), 2020 (0.02/0.76) гг.

Из-за высокой активности росомхи это животное можно встретить в любой точке заповедника «Басеги», во всех высотных поясах гор, в любое время года. По экспертной оценке автора, на охраняемой территории в среднем ежегодно держится от 1 до 3 взрослых особей. Районы их обитания частично выходят за пределы границ ООПТ. В разные периоды существования заповедника плотность населения росомхи была стабильной и существенно не менялась.

Соболь и кидус в заповеднике «Басеги»

По широте заповедника в настоящее время проходит крайний южный рубеж обитания соболя и соответственно кидуса (гибрида соболя и лесной куницы) на западном макросклоне Уральских гор [Lissovsky, Sheftel, Stakheev..., 2018]. На территории заповедника «Вишерский» эти представители рода *Martes* являются уже фоновыми таёжными хищниками и численно заметно преобладают над также обитающей в том районе лесной куницей. В заповеднике «Басеги» наблюдается обратная ситуация. Судя по числу визуальных встреч, лесная куница здесь абсолютно доминирует. Соболь и кидус встречаются редко и единично. По данным заповедной картотеки за период с 1984 по 2023 гг. лесная куница попадалась на глаза сотрудникам заповедника 32 раза. Соболь и кидус визуально не регистрировались ни разу и определялись исключительно по следам, оставленным в снежное время года.

По результатам многолетних ЗМУ средняя плотность популяции лесной куницы за 40 зимних сезонов составила 3.1 особь/1 000 га, усреднённый запас представителей данного вида – 118 особей/38 000 га заповедной территории. Колебания этих расчётных данных по годам составляют соответственно от 0.41/15 (2015 г.) до 9.3/353 (2022 г.). По сравнению с куницей соболь и кидус в заповеднике малочисленны. Из 40 ежегодных периодов проведения ЗМУ свежие пересечения следов этих животных отмечались в восьми зимних сезонах (1991–1992, 1994–1997, 2002 и 2015 гг.). «Пустыми» оказались оставшиеся 32 сезона. Средняя многолетняя плотность населения соболя и его гибридной формы рассчитывалась совместно и составила 0.007 особей/1 000 га, усреднённая величина запаса – 0.25 особей/38 000 га заповедной территории. Максимальная расчётная плотность отмечалась в 2015 г. (в год с минимальной за 40 лет наблюдений плотностью населения лесной куницы). Она составила 0.09 особей/1 000 га.

Точность и объективность представленных расчётных данных по соболу и кидусу вызывают сомнения. По материалам картотеки заповедника за 1984–2023 гг. на охраняемой территории было отмечено 12 случаев регистрации этих зверей по следам. При этом наблюдатели в 6 случаях из 12 сомневались в точности определения ими видовой принадлежности следа. Пять раз они давали в карточках уточнение «кидус или соболь» («соболь или кидус») и один раз – «кидус или куница» (табл. 2).

Регистрации встреч следов соболя и кидуса по материалам научной картотеки
[Registration of meetings of traces of sable and kidas based on the materials of the scientific file]

Дата встречи следов	Вид животного	Место встречи следов
21.03.1987	Кидус или куница	Восточный склон правого берега р. Б. Басег, охр. зона
16.03.1991	Кидус	Восточный склон г. Сев. Басег, зона леса
7.11.1991	Кидус или соболь	29/21 кв. перед болотом у к. Северный
30.01.1992	Кидус или соболь	27 кв.
14.03.1992	Кидус или соболь	31 кв. Усьвинское лесничество
6.02.1993	Соболь	6 кв. Северо-западный угол заповедника
17.03.1995	Соболь	76 кв. Коростелёвское лесничество
8.03.1996	Соболь	31 кв. перед Диким камнем
5.03.1997	Соболь	37 кв.
28.03.2002	Соболь	55 кв. западный склон Среднего Басега
4.03.2015	Кидус или соболь	Южный склон г. Сев. Басег
15.03.2015	Соболь или кидус	118 кв., спуск к р. Большой Басег

По мнению автора, из-за внешнего сходства куничьих, соболиных и кидусовых следов и отсутствия у учётников практики регулярного зимнего тропления этих видов, в настоящее время весьма высока вероятность недостоверного определения видовой принадлежности следа, как в паре соболь – куница, так и, особенно, в паре соболь – кидус [Семенов, 2021, 2022]. Поэтому современная ситуация с определением численного соотношения трёх представителей рода *Martes* в Басегах не ясна и требует дополнительного применения методов, предусматривающих визуальный контакт со зверем или его фото – видеосъёмку с точным определением видовой принадлежности.

Колонок в заповеднике «Басеги»

Ареал этого сибирского зверька целиком захватывает территорию заповедника «Басеги» и простирается дальше на Европейскую равнину до верховий р. Камы в Кировской обл. [Lissovsky et al., 2018]. При этом на севере горноуральской периферии мест своего естественного расселения колонок находится в весьма неблагоприятных условиях и становится исключительно редким видом. Особенно ярко эта тенденция проявляется на Северном Урале, где достаточно высока плотность населения соболя – основного конкурента и прямого преследователя колонка, активно истребляющего последнего [Линейцев, 2012]. Вероятно, по этой причине в заповеднике «Вишерский» по многолетним полевым наблюдениям автора колонок был чрезвычайно редким, штучным зверем. За 19 зимних сезонов (1999–2017 гг.) автор визуально отмечал его лишь однажды, на сопредельной территории, в добыче вишерских охотников, промышлявших зверя капканами в бассейне р. Курыксарки (февраль 1999 г.). Единичными были и следы колонка, зарегистрированные автором на мартовских маршрутах в 2001 и 2017 гг.

Таким образом, горный массив Басегов является одним из самых южных на Урале районов, где соболь уже появляется (см. выше), но ещё не достигает значительной плотности и не создаёт для поголовья колонка весомого хищнического пресса. Соответственно, территория заповедника «Басеги» – одна из самых северных на горном Урале местностей, где колонок обитает постоянно в относительно комфортных для себя условиях. В данном горно-таёжном районе этот зверёк также довольно редок и малочислен, что, по-видимому, вообще характерно для данного вида [Линейцев, 2012], но встречается регулярно, гораздо чаще, чем в Вишерском заповеднике.

По данным научной картотеки за все годы наблюдений колонка в Басегах визуально регистрировали 11 раз (табл. 3). Все встречи происходили на лесных дорогах или в непосредственной близости от кордонов.

Таблица 3

Визуальные встречи колонка в заповеднике «Басеги» по материалам научной картотеки
[Visual meetings column in the reserve "Basegi" based on the materials of the scientific file]

Дата встречи	Место встречи	Поведение животного
29.03.1990	96 кв. Южный кордон	
10.11.1990	3 кв.	Пересёк дорогу
20.02.1991	4 кв. возле кордона Лосиный остров	
3.04.1991	4 кв. возле кордона Лосиный остров	
7.09.1991	131 кв.	
16.05.2000	96 кв. Южный кордон	Пересёк дорогу
26.09.2012	53 кв. Мост через р. Неустроевка	
1.12.2012	24 кв.	Перебежал дорогу
3.10.2015	2 кв. Коростелёвское лесничество	Бежал по дороге
28.05.2018	10 кв. возле к. Счастливый	Выбежал из леса на дорогу
1.06.2019	16 кв. Усьвинское лесничество	Перебежал дорогу

На маршрутах ЗМУ свежие суточные следы колонка встречались в 32 зимних сезонах из 40. Из расчётов плотности населения промысловых зверей этот вид выпадал восемь раз: в 1990, 2001, 2008, 2009, 2014, 2016, 2018, 2019 гг. С учётом этих объективно неблагоприятных лет средняя многолетняя расчётной плотности населения колонка в заповеднике составила 0.2 особи/1 000 га. Средний многолетний запас – 7.6 особей/38 000 га охраняемой территории. Максимальное значение этих показателей отмечено по итогам ЗМУ 2015 г. – 1.22 ос./1 000 га и соответственно 45 особей на 38 000 га территории заповедника.

Колонок в Басегах обитает постоянно, но в небольшом количестве, населяя преимущественно лесную и подгольцовую зоны. Величина его поголовья на ООПТ подвержена резким колебаниям [Семенов, 2021]. Периодическое отсутствие регистраций свежих следов при проведении ЗМУ, вероятно, объективно характеризует естественную динамику плотности населения вида.

Заключение

Из пяти видов (северный олень, сибирская косуля, россомаха, соболь, колонок) и одной гибридной формы (кидус) охотничье-промысловых зверей, зарегистрированных на территории заповедника «Басеги» возле границ своих ареалов, два вида (россомаха и колонок) обитают здесь постоянно, имея невысокую, но, вероятно, оптимальную для природных условий Среднего Урала плотность популяций. Основой для оценки количественных показателей величины поголовья данных видов на ООПТ был и остаётся зимний маршрутный учёт по следам на снегу. При этом в отношении колонка типовой метод ЗМУ даёт объективную картину естественных колебаний плотности населения вида. В отношении россомахи расчётные показатели ЗМУ часто оказываются заниженными и требуют корректировок, основанных на экспертной оценке, учитывающей локализацию пунктов встреч всех следов данного вида, места визуальных регистраций животных и материалы фотоловушек.

Соболь и кидус являются редкими и малочисленными представителями фауны заповедника «Басеги», возможно, присутствующими на данной ООПТ не каждый год. Имеющиеся многолетние данные по состоянию их поголовья, полученные с помощью типовой методики ЗМУ, требуют серьёзных уточнений с применением иных способов наблюдения, позволяющих обеспечить визуальный контакт с животными и точное определение их видовой принадлежности.

Сибирская косуля для территории заповедника «Басеги» – исключительно редкий зверь, в отдельные бесснежные сезоны заходящий на данную ООПТ с сопредельных районов Свердловской обл. Расселиться на охраняемой территории это животное сможет только при существенных климатических изменениях, приводящих к 3–4-кратному уменьшению высоты снежного покрова. В настоящее время единственными возможными способами наблюдений за данным видом в заповеднике являются случайная фиксация заходящих на ООПТ особей фотоловушками и пополнение картотеки редких встреч с косулями и их следами на маршрутах.

Дикий северный олень в настоящее время на территории заповедника «Басеги» не встречается. Его случайные заходы на данную ООПТ маловероятны, современная граница естественного расселения по Уральским горам пролегает в 150–200 км севернее.

Список источников

1. Кичигаев Э.Е., Бояршинов В.Д. Состояние численности охотничье-промысловой фауны заповедника «Басеги» // Экономика и охрана биологических ресурсов Прикамья. Пермь, 1986. С. 41–42.
2. Кичигаев Э.Е., Курулюк В.М. Состояние численности охотничье-промысловых животных в заповеднике «Басеги» // Состояние и динамика природных комплексов особо охраняемых территорий Урала: тез. докл. науч.-практ. конф. Сыктывкар, 2000. С. 78–79.
3. Кичигаев Э.Е., Курулюк В.М. Характер биотопического распределения крупных хищников в заповеднике «Басеги» // Исследования эталонных природных комплексов Урала. Екатеринбург: Екатеринбург, 2001. С. 301–302.
4. Курулюк В.М. Состояние численности охотничье-промысловых животных в заповеднике «Басеги» // Проблемы особо охраняемых природных территорий европейского Севера (к 10-летию национального парка «Югыд ва»). Сыктывкар, 2004. С. 84–85.
5. Курулюк В.М. Состояние численности охотничье-промысловых животных в заповеднике «Басеги» // Актуальные проблемы охраны и рационального использования животного мира: материалы VI конф. зоологов Республики Молдовы. Кишинев, 2007. С. 57–59.
6. Линейцев С.Н. Охотничьи и редкие звери Средней Сибири. Абакан, 2012. 304 с.
7. Методические рекомендации по определению численности копытных, пушных животных и птиц методом зимнего маршрутного учёта. Приложение 1 к приказу ФГБУ "Центрохотконтроль" от 13 нояб. 2014, № 58. 49 с.

8. Методические рекомендации по организации, проведению и обработке данных зимнего маршрутного учёта охотничьих животных в России (с алгоритмами расчёта численности) / Министерство сельского хозяйства РФ. М., 2009. 44 с.

9. Приклонский С.Г. Инструкция по зимнему маршрутному учёту охотничьих животных. М.: Колос, 1972. 16 с.

10. Семенов В.В. Методологические аспекты организации зимних маршрутных учётов на территории заповедника «Басеги» по результатам 2020 г. // Тр. гос. заповедника «Басеги». Вып. 6. Пермь, 2021. С. 194–204.

11. Семенов В.В. Анализ эффективности результатов зимних маршрутных учётов и расчётных оценок показателей численности охотничье-промысловых млекопитающих в условиях заповедника «Басеги» // Научные исследования на ООПТ Урала и Поволжья: материалы Всеросс. науч.-практ. конф. Пермь, 2022. С. 168–172

12. Семенов В.В. Динамика численности мелких куньих рода *Mustela* в заповеднике "Басеги" по материалам многолетних зимних учётов // Вестник Пермского государственного гуманитарно-педагогического университета. Сер. № 2. Физико-математические и естественные науки. 2021. Вып. 1. С. 57–68.

13. Lisovsky A.A. et al. Creating an integrated information system for the analysis of mammalian fauna in the Russian Federation and the preliminary results of this information system // Russian Journal of Theriology. 2018. Vol. 17, № 2. P. 85–90.

References

1. Kichigaev E.E., Boyarshinov V.D. [The state of the number of hunting and commercial fauna of the reserve "Basegi"]. *Ėkonomika i ochrana biologiĉeskikh resursov Prikam'ja* [Economics and protection of biological resources of the Kama region]. Perm, 1986, pp. 41-42. (In Russ.).

2. Kichigaev E.E., Kurulyuk V.M. [The state of the number of hunting and commercial animals in the reserve "Basegi"]. *Sostojanie i dinamika prirodnykh kompleksov osobo ochranjaemykh territorij Urala* [The state and dynamics of natural complexes of specially protected territories of the Urals: Tez. dokl. scientific and practical conf., dedicated to the 70th anniversary of the Pechero-Ilychsky Reserveka]. Syktyvkar, 2000, pp. 78-79. (In Russ.).

3. Kichigaev E.E., Kurulyuk V.M. [The nature of the biotopic distribution of large predators in the Basegi Reserve]. *Issledovaniya ětalonnykh prirodnykh kompleksov Urala* [Studies of reference natural complexes of the Urals]. Yekaterinburg, Yekaterinburg Publ., 2001, pp. 301-302. (In Russ.).

4. Kurulyuk V.M. [The state of the number of hunting and commercial animals in the reserve "Basegi"]. *Problemy osobo ochranjaemykh prirodnykh territorij evropejskogo Severa* [Problems of specially protected natural territories of the European North (to the 10th anniversary of the National Park "Yugyd Va")]. Syktyvkar, 2004, pp. 84-85. (In Russ.).

5. Kurulyuk V.M. [The state of the number of hunting and commercial animals in the reserve "Basegi"]. *Aktual'nye problem ochrany i racional'nogo ispol'zovanija životnogo mira* [Actual problems of protection and rational use of wildlife: Mat. VI conf. zoologists of the Republic of Moldova]. Chisinau, 2007, pp. 57-59. (In Russ.).

6. Linetsev S.N. *Ochotniĉ'i i redkie zveri Srednej Sibiri* [Hunting and rare animals of Central Siberia]. Abakan, 2012. 304 p. (In Russ.).

7. *Metodiĉeskie rekomendacii po opredeleniju ĉislennosti kopytnykh, pušnykh životnykh i ptic metodom zimnego maršrutnogo uĉeta* [Methodological recommendations for determining the number of ungulates, fur-bearing animals and birds by the method of winter route accounting. Appendix 1 to the order of the Federal State Budgetary Institution "Centrophotcontrol" dated 13/11/2014, No. 58]. 49 p. (In Russ.).

8. *Metodiĉeskie rekomendacii po organizacii, proveeniju i obrabotke dannykh zimnego maršrutnogo uĉeta ochotniĉ'ich životnykh v Rossii* [Methodological recommendations on the organization, conduct and processing of winter route accounting of hunting animals in Russia (with algorithms for calculating the number). Ministry of Agriculture of the Russian Federation]. Moscow, 2009. 44 p. (In Russ.).

9. Prikloński S.G. *Instrukcija po zimnegu maršrutnomu uĉetu ochotniĉ'ich životnykh* [Instructions for winter route accounting of hunting animals]. Moscow, Kolos Publ., 1972. 16 p. (In Russ.).

10. Semenov V.V. [Methodological aspects of the organization of winter route records on the territory of the Basegi Nature Reserve according to the results of 2020]. *Trudy gosudarstvennogo zapovednika "Basegii"* [Proceedings of the Basegi State Nature Reserve]. Issue 6. Perm, 2021, pp. 194-204. (In Russ.).

11. Semenov V.V. [Analysis of the effectiveness of the results of winter route surveys and estimated estimates of the number of hunting and fishing mammals in the conditions of the Basegi Reserve]. *Nauĉnyye issledovaniya na OOPT Urala i Povolž'ja* [Scientific research on protected areas of the Urals and Volga region (Electronic resource): Materials of the All-Russian Scientific and Practical conference dedicated to the 40th anniversary of the FSBI "Basegi State Reserve"]. Perm, 2022, pp. 168-172. (In Russ.).

12. Semenov V.V. [Dynamics of the number of small marten of the genus *Mustela* in the reserve "Basegi" based on the materials of long-term winter records]. *Vestnik Permskogo gosudarstvennogo gumanitarno-pedagogičeskogo universiyeta*. Ser. No. 2. Physical, mathematical and natural sciences. Iss. 1 (2021): pp. 57-68. (In Russ.).

13. Lisovsky A.A., Sheftel B.I., Stakheev V.V., Ermakov O.A., Smirnov D.G., Glazov D.M., Strelnikov D.P., Ekonomov A.V., Titov S.V., Obolenskaya E.V., Kozlov Y.A. & Saveljev A.P. Creating an integrated information system for the analysis of mammalian fauna in the Russian Federation and the preliminary results of this information system. *Russian Journal of Theriology*. V. 17, No. 2 (2018): pp. 85–90.

Статья поступила в редакцию 04.09.2023; одобрена после рецензирования 08.09.2023; принята к публикации 02.10.2023.

The article was submitted 04.09.2023; approved after reviewing 08.09.2023; accepted for publication 02.10.2023.

Информация об авторе

В. В. Семенов – канд. геогр. наук, научный сотрудник.

Information about the author

V. V. Semenov – candidate of geographical sciences, researcher.

ЗООЛОГИЯ

Научная статья

УДК 591.543.1

doi: 10.17072/1994-9952-2023-3-235-241.

Температура субстрата, выбираемого рептилиями
Камского Предуралья: подходы к определению

Николай Анатольевич Четанов^{1✉, 2}, Николай Антонович Литвинов³,
Светлана Владимировна Ганщук⁴, Данила Минуллович Галиулин⁵

^{1, 3, 4} Пермский государственный гуманитарно-педагогический университет, Пермь, Россия

^{2, 5} Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

^{1✉, 2} chetanov@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8512-0244>

³ litvinov@pspu.ru

⁴ ganshchuk@pspu.ru

⁵ galiulindm@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-5990-072X>

Аннотация. Представлены данные по ранжированию температуры выбираемого субстрата для самок пяти видов рептилий Камского Предуралья: обыкновенной гадюки *Vipera berus* (Linnaeus, 1758), обыкновенного ужа *Natrix natrix* (Linnaeus, 1758), прыткой ящерицы *Lacerta agilis* Linnaeus, 1758, живородящей ящерицы *Zootoca vivipara* (Lichtenstein, 1823) и колхидской веретеницы *Anguis colchica* (Nordmann, 1840). При проведении множественного попарного сравнения использовались четыре статистических критерия: *t*-критерий Стьюдента без поправки Бонферрони, критерий Шеффе, критерий Манна-Уитни и критерий Краскелла-Уоллиса. Параметрические и непараметрические критерии дали сходные результаты. Продемонстрировано, что наиболее корректным при подобных сравнениях является критерий Краскелла-Уоллиса, применение *t*-критерия Стьюдента или критерия Манна-Уитни в значительной мере повышает шанс на увеличение ошибок первого рода (отвергается верная нулевая гипотеза), при использовании выборок с малым числом наблюдений увеличивается вероятность ошибки второго рода (принимается неверная нулевая гипотеза). В результате проведенной обработки материала выявлено, что наиболее теплолюбивым, требовательным к температуре субстрата видом, является прыткая ящерица *L. agilis* Linnaeus, 1758, в то время как различия между средними температурами субстрата, выбираемыми представителями других видов, не обладают статистической значимостью.

Ключевые слова: температура субстрата, ранжирование, рептилии, Камское Предуралье

Для цитирования: Температура субстрата, выбираемого рептилиями Камского Предуралья: подходы к определению / Н. А. Четанов, Н. А. Литвинов, С. В. Ганщук, Д. М. Галиулин // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2023. Вып. 3. С. 235–241. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2023-3-235-241>.

ZOOLOGY

Original article

The temperature of the substrate chosen by the reptiles
of the Kama Cis-Urals: approaches to determination

Nikolai A. Chetanov^{1✉, 2}, Nikolai A. Litvinov³, Svetlana V. Ganshchuk⁴,
Danila M. Galiulin⁵

^{1, 3, 4} Perm State Humanitarian Pedagogical University, Perm, Russian Federation

^{2, 5} Perm State University, Perm, Russian Federation

^{1✉, 2} chetanov@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8512-0244>

³ litvinov@pspu.ru

⁴ ganshchuk@pspu.ru

⁵ galiulindm@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-5990-072X>

Abstract. The paper presents data on the temperature ranking of the chosen substrate for females of five reptile species of the Kama Cis-Urals: common European adder *Vipera berus* (Linnaeus, 1758), grass snake *Natrix natrix* (Linnaeus, 1758), sand lizard *Lacerta agilis* Linnaeus, 1758, viviparous lizard *Zootoca vivipara* (Lichtenstein, 1823) and eastern slowworm *Anguis colchica* (Nordmann, 1840). When conducting multiple pairwise comparisons, four statistical tests were used: Student's *t*-test without Bonferroni correction, Scheffe's test, Mann-Whitney test, and Krus-

kal-Wallis test. Parametric and non-parametric tests gave similar results. It has been demonstrated that the most correct in such comparisons is the Kruskal-Wallis test, the use of the Student's t-test or the Mann-Whitney test significantly increases the chance of an increase in type I errors (a true null hypothesis is rejected), when using samples with a small number of observations, the probability of a type II error increases (an incorrect null hypothesis is accepted). As a result of the material processing, it was revealed that the most heat-loving species, demanding on the temperature of the substrate, is the sand lizard *Lacerta agilis* Linnaeus, 1758, while the differences between the average temperatures of the substrate, selected by representatives of other species, do not have statistical significance.

Keywords: substrate temperature, ranking, reptiles, Kama Cis-Urals

For citation: Chetanov N. A., Litvinov N. A., Ganshchuk S. V., Galiulin D. M. [The temperature of the substrate chosen by the reptiles of the Kama Cis-Urals: approaches to determination]. *Bulletin of Perm University. Biology*. Iss. 3 (2023): pp. 235-241. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2023-3-235-241>.

Введение

Разнообразие рептилий в Камском Предуралье невелико – у нас встречается всего три вида змей: обыкновенный уж *Natrix natrix* (Linnaeus, 1758), обыкновенная медянка *Coronella austriaca* Laurenti, 1768 и обыкновенная гадюка *Vipera berus* (Linnaeus, 1758) и три вида ящериц: живородящая ящерица *Zootoca vivipara* (Lichtenstein, 1823), прыткая ящерица *Lacerta agilis* Linnaeus, 1758 и колхидская веретеница *Anguis colchica* (Nordmann, 1840) [Юшков, Воронов, 1994; Животные Прикамья, 2001]. Необходимо уточнить, что с точки зрения современной систематики в Камском Предуралье обитает не ломкая веретеница *Anguis fragilis* Linnaeus, 1758, как указывалось многие годы до этого, а колхидская веретеница *Anguis colchica* (Nordmann, 1840) [Jablonski et al., 2021].

У каждого вида есть свои экологические особенности, так или иначе накладывающие отпечаток на его распространение и численность. Можно вполне обоснованно предположить, что для эктотермов-рептилий ключевым фактором станет температура окружающей среды, причем в первую очередь температура субстрата. Нахождение рептилии в том или ином месте не случайно, животное пытается выбрать наиболее комфортные для него условия [Слоним, 1984]. Какие-то виды предпочитают более теплые местообитания, какие-то могут существовать при относительно низких температурах. В принципе, за последние 20 лет вышло достаточно много работ, посвященных термобиологии рептилий Камского Предуралья [Литвинов, 2004; Литвинов, Ганщук, 2004; Литвинов и др., 2013]. Однако зачастую в этих работах мы видим указания лишь на средние значения температур окружающей среды для того или иного вида, но анализ наличия или отсутствия достоверных различий между рассматриваемыми показателями не представлен.

Цель нашей работы – ранжирование обитающих на территории Камского Предуралья рептилий по температуре выбираемого ими субстрата с последующим анализом достоверности выявленных различий.

Материалы и методы исследования

Работа основана на материале термобиологических исследований, проведенных в Камском Предуралье за период с 1996 по 2019 гг. в 14 административных районах Пермского края (приблизительно от 56° до 60° с.ш. и от 55° до 57° в.д.): Горнозаводском, Кишертском, Краснокамском, Кунгурском, Октябрьском, Осинском, Оханском, Пермском, Ординском, Суксунском, Уинском, Чайковском, Чердынском, Чусовском.

Учитывались только самки рептилий с близкими размерными характеристиками, сходным физиологическим статусом (не беременные, не переваривающие пищу, не спаривающиеся) и отловленные при схожих погодных условиях (отсутствие осадков) в период типичной активности. Такой подход позволяет снизить гетерогенность выборок.

Объем выборки по каждому виду рептилий отражен в табл. 1.

Таблица 1

Объем изученного материала
[The volume of the studied material]

Вид	Количество особей
Обыкновенная гадюка, черная морфа	67
Обыкновенная гадюка, светлая морфа	100
Обыкновенный уж	82
Прыткая ящерица	135
Живородящая ящерица	74
Колхидская веретеница	13
Всего	471

В связи с крайне малым объемом данных в работу не вошли материалы по обыкновенной медянке. Но данные по обыкновенной гадюке были разделены на две разных цветовых морфы, так как высказывались предположения о термоадаптивном значении черной окраски [Горелов, 1977; Литвинов, 2007].

К чёрной морфе мы отнесли змей чёрного цвета с иногда проглядывающим на спине рисунком. К светлой морфе – всех остальных: светло- и тёмно-серых, красновато-медного оттенка и других. Половой дихроматизм не учитывался.

Температура субстрата, на котором находились рептилии в момент отлова, измерялась термистором МТ-54, отградуированным по электронному термометру Checktemp с ценой деления 0.1°C.

При статистической обработке материала использовались следующие методы.

Для характеристики выборок применялись стандартные процедуры описательной статистики: определение средней арифметической с ошибкой, медианы [Лакин, 1990].

Попарное сравнение проводилось с использованием как параметрических критериев (*t*-критерия Стьюдента и критерия Шеффе), так и их непараметрических аналогов (*U*-критерий Манна-Уитни и Краскелла-Уоллиса).

Результаты и их обсуждение

На первом этапе исследования проводилась первичная статистическая обработка материала, направленная на получение средних значений по выборкам. Результаты представлены в табл. 2.

Таблица 2

Средние значения температуры субстрата, выбираемого самками пяти видов рептилий Камского Предуралья

[Average temperatures of the substrate chosen by females of five reptile species Kama Cis-Urals]

Вид	$M \pm m$ (°C)	Me (°C)	$ M - Me $ (°C)
Обыкновенная гадюка, светлая морфа ($n = 100$)	22.8±0.65	22.9	0.1
Обыкновенная гадюка, черная морфа ($n = 67$)	21.2±0.66	22.0	0.8
Обыкновенный уж ($n = 82$)	22.6±0.52	21.6	1.0
Прыткая ящерица ($n = 135$)	27.2±0.54	27.5	0.3
Живородящая ящерица ($n = 75$)	23.3±0.59	23.6	0.3
Колхидская веретеница ($n = 13$)	22.5±0.83	21.4	1.1

Значительных расхождений между средними арифметическими выборки и их медианами не наблюдается, максимально разница отмечена у колхидской веретеницы – 1,1°C. Соответственно, можно ожидать и сходные результаты при ранжировании видов.

На втором этапе работы проводилось ранжирование изучаемых видов по температуре выбираемой субстрата в порядке повышения средних значений для выборок.

По средней арифметической выстраивается следующий ряд по возрастанию температуры выбираемого субстрата:

Обыкновенная гадюка, черная морфа (21.2±0.66°C) → Колхидская веретеница (22.5±0.83°C) → Обыкновенный уж (22.6±0.52°C) → Обыкновенная гадюка, светлая морфа (22.8±0.65°C) → Живородящая ящерица (23.3±0.59°C) → Прыткая ящерица (27.2±0.54°C).

При построении ряда по медианам выборок картина несколько меняется (впрочем, не так уж и сильно):

Колхидская веретеница (21.4°C) → Обыкновенный уж (21.6°C) → Обыкновенная гадюка, черная морфа (22.0°C) → Обыкновенная гадюка, светлая морфа (22.9°C) → Живородящая ящерица (23.6°C) → Прыткая ящерица (27.5°C).

Таким образом, в обоих случаях наиболее теплолюбивой является прыткая ящерица, остальные виды чаще встречаются на значительно менее теплом субстрате. Однако, сравнивая между собой значения средних, возникает обоснованное предположение, что, скорее всего, большая часть различий между ними не будет статистически значимой.

Попробуем оценить эти различия с использованием различных статистических критериев.

Начнем с некорректного, но достаточно часто используемого в научных работах попарного сравнения нескольких групп при помощи *t*-критерия Стьюдента без поправки Бонферрони (табл. 3).

Как видно из данных табл. 3, статистически достоверные различия в температуре выбираемого субстрата обнаружены для самок прыткой ящерицы при сравнении со всеми остальными видами, что является вполне ожидаемым. Кроме того, выявлены достоверные различия в температуре выбираемого субстрата между черной морфой обыкновенной гадюки и живородящей ящерицей. Разумного объяснения выявленной закономерности мы дать не можем, так как данные виды зачастую обитают синтопически. Можно предположить, что это пример ошибки первого рода, связанной с множественным попарным сравнением.

Таблица 3

Статистическая значимость различий температуры субстрата, выбираемого самками пяти видов рептилий (*t*-критерий Стьюдента без поправки Бонферрони)
 [Statistical significance of differences in substrate temperature chosen by females of five reptile species (Student's *t*-test without Bonferroni correction)]

Вид	t_{ϕ} p					
	Обыкновенная гадюка, светлая морфа	Обыкновенная гадюка, черная морфа	Обыкновенный уж	Прыткая ящерица	Живородящая ящерица	Колхидская веретеница
Обыкновенная гадюка, светлая морфа (22.8±0.65°C)	–	1.715 0.088	0.282 0.778	5.252* 0.000	0.467 0.641	0.181 0.856
Обыкновенная гадюка, черная морфа (21.2±0.66°C)	1.715 0.088	–	1.705 0.090	6.775 0.000	2.345 0.020	0.851 0.398
Обыкновенный уж (22.6±0.52°C)	0.282 0.778	1.705 0.090	–	5.834 0.000	0.851 0.396	0.068 0.946
Прыткая ящерица (27.2±0.54°C)	5.252 0.000	6.775 0.000	5.834 0.000	–	4.706 0.000	2.700 0.008
Живородящая ящерица (23.3±0.59°C)	0.467 0.641	2.345 0.020	0.851 0.396	4.706 0.000	–	0.516 0.607
Колхидская веретеница (22.5±0.3°C)	0.181 0.856	0.851 0.398	0.068 0.946	2.700 0.008	0.516 0.607	–

Примечание. *здесь и далее жирным выделены различия, достоверные на уровне статистической значимости 0.05 или выше.

Теперь попробуем проанализировать эти же данные с применением значительно более корректного метода – критерия Шеффе (табл. 4). Данный критерий является одним из *post-hoc* тестов при дисперсионном анализе и позволяет проводить попарное сравнение более чем двух выборок.

Таблица 4

Статистическая значимость различий температуры субстрата, выбираемого самками пяти видов рептилий (критерий Шеффе)
 [Statistical significance of differences in substrate temperature chosen by females of five reptile species (Scheffé's method)]

Вид	p					
	Обыкновенная гадюка, светлая морфа	Обыкновенная гадюка, черная морфа	Обыкновенный уж	Прыткая ящерица	Живородящая ящерица	Колхидская веретеница
Обыкновенная гадюка, светлая морфа (22.8±0.65°C)	–	0.845	0.993	0.000	0.805	1.000
Обыкновенная гадюка, черная морфа (21.2±0.66°C)	0.845	–	0.957	0.000	0.315	0.996
Обыкновенный уж (22.6±0.52°C)	0.993	0.957	–	0.000	0.429	1.000
Прыткая ящерица (27.2±0.54°C)	0.000	0.000	0.000	–	0.005	0.106
Живородящая ящерица (23.3±0.59°C)	0.805	0.315	0.429	0.005	–	0.969
Колхидская веретеница (22.5±0.83°C)	1.000	0.996	1.000	0.106	0.969	–

В данном случае найдены только достоверные различия между прыткой ящерицей и прочими видами, за исключением колхидской веретеницы. Скорее всего, это объясняется малой выборкой последней.

Если подходить к проведению статистической обработки строго, то начинать нашу работу необходимо было с проверки нормальности распределения выборок, ведь и *t*-критерий Стьюдента, и дисперсионный анализ предназначены для обработки данных, отвечающих нормальному распределению.

Вполне ожидаемо, что в ряде случаев наблюдается значительное отклонение распределения выборок от нормального. Соответственно, использование параметрических процедур при сравнении по идее недопустимо. Попробуем провести аналогичные сравнения с помощью непараметрических аналогов уже использованных критериев.

Начнем с попарного сравнения с применением критерия Манна-Уитни (табл. 5).

Таблица 5

Статистическая значимость различий температуры субстрата, выбираемого самками пяти видов рептилий (критерий Манна-Уитни)

[Statistical significance of differences in substrate temperature chosen by females of five reptile species (Mann–Whitney *U* test)]

Вид	<i>U</i> <i>p</i>					
	Обыкновенная гадюка, светлая морфа	Обыкновенная гадюка, черная морфа	Обыкновенный уж	Прыткая ящерица	Живородящая ящерица	Колхидская веретеница
Обыкновенная гадюка, светлая морфа (22.9°C)	–	2839.0 0.096	3915.0 0.512	4182.0 0.000	3514.0 0.530	624.5 0.822
Обыкновенная гадюка, черная морфа (22.0°C)	2839.0 0.096	–	2418.0 0.171	2041.0 0.000	1936.0 0.019	373.0 0.419
Обыкновенный уж (21.6°C)	3915.0 0.512	2418.0 0.171	–	2846.0 0.000	2663.5 0.118	534.0 0.957
Прыткая ящерица (27.5°C)	4182.0 0.000	2041.0 0.000	2846.0 0.000	–	3079.0 0.000	389.0 0.000
Живородящая ящерица (23.6°C)	3514.0 0.530	1936.0 0.019	2663.5 0.118	3079.0 0.000	–	409.5 0.362
Колхидская веретеница (21.4°C)	624.5 0.822	373.0 0.419	534.0 0.957	389.0 0.000	409.5 0.362	–

Результаты попарного сравнения полностью совпадают с теми, что уже были получены при использовании *t*-критерия Стьюдента: температура выбираемого прыткой ящерицей субстрата достоверно отличается при сравнении с выборками остальных видов. И также, как и при использовании *t*-критерия Стьюдента, обнаруживается статистически достоверное различие между живородящей ящерицей и черной морфой обыкновенной гадюки. Таким образом, принципиальных различий между параметрическим *t*-критерием Стьюдента и его непараметрическим аналогом выявлено не было.

Теперь опробуем наиболее корректный вариант проведения подобного множественного сравнения – критерий Краскелла-Уоллиса (табл. 6). Данный статистический критерий является, по сути, непараметрическим аналогом дисперсионного анализа, и именно его в таком случае и стоит применять.

Таблица 6

Статистическая значимость различий температуры субстрата, выбираемого самками пяти видов рептилий (критерий Краскелла-Уоллиса)

[Statistical significance of differences in substrate temperature chosen by females of five reptile species (Kruskal–Wallis test)]

Вид	<i>p</i>					
	Обыкновенная гадюка, светлая морфа	Обыкновенная гадюка, черная морфа	Обыкновенный уж	Прыткая ящерица	Живородящая ящерица	Колхидская веретеница
Обыкновенная гадюка, светлая морфа (22.9°C)	–	1.000	1.000	0.000	1.000	1.000
Обыкновенная гадюка, черная морфа (22.0°C)	1.000	–	1.000	0.000	0.412	1.000
Обыкновенный уж (21.6°C)	1.000	1.000	–	0.000	1.000	1.000
Прыткая ящерица (27.5°C)	0.000	0.000	0.000	–	0.000	0.047
Живородящая ящерица (23.6°C)	1.000	0.412	1.000	0.000	–	1.000
Колхидская веретеница (21.4°C)	1.000	1.000	1.000	0.047	1.000	–

Как видно из данных табл. 6, найдены статистически достоверные различия средней температуры выбираемого субстрата между прыткой ящерицей и всеми остальными видами, в том числе и колхидской веретеницей. Таким образом, результаты применения критерия Краскелла-Уоллиса практически полностью совпадают с теми, что были получены при использовании критерия Шеффе.

Таким образом мы подтвердили свое предположение, что из рептилий Камского Предуралья наиболее теплолюбивым, требовательным к температуре субстрата видом является прыткая ящерица, в то время как остальные сравниваемые виды не различаются по предпочитаемым температурам субстрата. С учетом того, что северная граница распространения прыткой ящерицы в Камском Предуралье проходит примерно на широте 58° с.ш., можно сделать обоснованное предположение о наличии связи между теплолюбивостью данного вида и его распространением. По всей видимости, определяющим фактором, не дающим прыткой ящерице «продвигаться» на север, как раз и является температура субстрата, в то время как все остальные виды из числа сравниваемых распространены практически на всей территории Камского Предуралья.

Заключение

Постараемся подвести предварительные итоги:

- 1) параметрические и непараметрические статистические критерии дают сходные результаты при сравнении относительно больших выборок;
- 2) при использовании множественных попарных сравнений с применением критериев, предназначенных для сравнения двух выборок (*t*-критерий Стьюдента, критерий Манна-Уитни) велики шансы на ошибку первого рода;
- 3) выборки с малым количеством наблюдений в значительной мере повышают вероятность ошибок второго рода при проведении попарных сравнений;
- 4) из всех видов рептилий Камского Предуралья наиболее теплолюбивым при выборе субстрата является прыткая ящерица, различия по температуре выбираемого субстрата для прочих видов не обладают статистической значимостью и не позволяют провести корректное ранжирование.

Список источников

1. Горелов Ю.К. О роли окраски пресмыкающихся // Вопросы герпетологии. Л.: Наука, 1977. С. 69–71.
2. Животные Прикамья: Кн. 2. Позвоночные / ред. А.И. Шепель. Пермь: Кн. мир, 2001. 166 с.
3. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высш. шк., 1990. 351 с.
4. Литвинов Н.А. Термобиологические исследования // Змеи Волжско-Камского края. Самара: Изд-во СамНЦ РАН, 2004. С. 109–146.
5. Литвинов Н.А. Темная окраска рептилий как термоадаптация // Актуальные проблемы герпетологии и токсикологии: сб. науч. тр. Тольятти, 2007. Вып. 10. С. 83–88.
6. Литвинов Н.А., Ганцук С.В. Температура среды и тела рептилий Прикамья и Поволжья // Адаптация биологических систем к естественным и экстремальным факторам среды: материалы Всерос. науч. конф. Челябинск, 2004. С. 289–298.
7. Литвинов Н.А., Ганцук С.В., Четанов Н.А. Температура тела рептилий Волжского бассейна и ее взаимосвязь с температурой окружающей среды // Зоологический журнал. 2013. Т. 92, № 5. С. 568–576.
8. Слоним А.Д. Температура среды обитания и эволюция температурного гомеостаза // Физиология терморегуляции. Л.: Наука, 1984. С. 378–440.
9. Юшков Р.А., Воронов Г.А. Амфибии и рептилии Пермской области: предварительный кадастр. Пермь: Изд-во Перм. ун-та, 1994. 158 с.
10. Jablonski D. et al. The distribution and biogeography of slow worms (*Anguis*, Squamata) across the Western Palearctic, with an emphasis on secondary contact zones // *Amphibia-Reptilia*. 2021. Vol. 42. P. 519–530. doi:10.1163/15685381-bja10069.

References

1. Gorelov Yu.K. [On the role of color in reptiles]. *Voprosy gerpetologii* [Questions of herpetology]. Leningrad, Nauka Publ., 1977, pp. 69-71. (In Russ.).
2. Shepel A.I., ed. *Zhivotnye Prikam'ja: Kn. 2. Pozvonočnye* [Animals of the Kama region: Book 2. Vertebrates]. Perm, Knižnyj mir Publ., 2001. 166 p. (In Russ.).
3. Lakin G.F. *Biometrija* [Biometry]. Moscow, Vysshaja škola Publ., 1990. 351 p. (In Russ.).
4. Litvinov N.A. [Thermobiological studies]. *Zmei Volžsko-Kamskogo kraja* [Snakes of the Volga-Kama region]. Samara, Publishing House of the SamNTs RAS, 2004, pp. 109-146. (In Russ.).

5. Litvinov N.A. [Dark coloration of reptiles as thermal adaptation]. *Aktual'nye problemy gerpetologii i toksinologii* [Actual problems of herpetology and toxinology: collection of scientific papers]. Togliatti, 2007, Iss. 10, pp. 83-88. (In Russ.).

6. Litvinov N.A., Ganshchuk S.V. [Environmental and body temperature of reptiles of the Kama and Volga regions]. *Adaptacija biologičeskich sistem k estestvennym i ekstremal'nym faktoram sredy* [Adaptation of biological systems to natural and extreme environmental factors: materials of the All-Russian Scientific Conference]. Chelyabinsk, 2004, pp. 289-298. (In Russ.).

7. Litvinov N.A., Ganshchuk S.V., Chetanov N.A. [Body temperature of reptiles of the Volga basin and its relationship with ambient temperature]. *Zoologičeskij žurnal*. V. 92, No. 5 (2013): pp. 568-576. (In Russ.).

8. Slonim A.D. [Temperature of the environment and the evolution of temperature homeostasis]. *Fiziologija termoreguljacii* [Physiology of thermoregulation]. Leningrad, Nauka Publ., 1984, pp. 378-440. (In Russ.).

9. Yushkov R.A., Voronov G.A. *Amfibii i reptilii Permskoj oblasti. Predvaritel'nyj kadastr* [Amphibians and reptiles of the Perm region. Preliminary inventory]. Perm: Publishing House of Perm University, 1994. 158 p. (In Russ.).

10. Jablonski D., Sillero N., Oskyrko O., Bellati A., Čeirāns A., Cheylan M., Cogălniceanu D., Crnobrnja-Isailović J., Crochet P.-A., Crottini A., Doronin I., Džukić G., Geniez P., Ilgaz Ç., Iosif R., Jandzik D., Jelić D., Litvinchuk S., Ljubisavljević K., Lymberakis P., Mikulíček P., Mizsei E., Moravec J., Najbar B., Pabijan M., Pupins M., Sourrouille P., Strachinis I., Szabolcs M., Thanou E., Tzoras E., Vergilov V., Vörös J. & Gvoždík V. The distribution and biogeography of slow worms (*Anguis*, Squamata) across the Western Palearctic, with an emphasis on secondary contact zones. *Amphibia-Reptilia*. V. 42 (2021): pp. 519-530. doi:10.1163/15685381-bja10069.

Статья поступила в редакцию 09.06.2023; одобрена после рецензирования 29.08.2023; принята к публикации 02.10.2023.

The article was submitted 09.06.2023; approved after reviewing 29.08.2023; accepted for publication 02.10.2023.

Информация об авторах

Н. А. Четанов – канд. биол. наук, доцент;

Н. А. Литвинов – канд. биол. наук, доцент;

С. В. Ганщук – канд. биол. наук, доцент;

Д. М. Галиулин – аспирант.

Information about the authors

N. A. Chetanov – candidate of biology, docent;

N. A. Litvinov – candidate of biology, docent;

S. V. Ganshchuk – candidate of biology, docent;

D. M. Galiulin – postgraduate student.

Вклад авторов:

Четанов Н. А. – концепция исследования; анализ литературы; выполнение исследования; обработка результатов; написание исходного текста.

Литвинов Н. А. – выполнение исследования; обработка результатов; доработка текста; итоговые выводы.

Ганщук С. В. – выполнение исследования; обработка результатов.

Галиулин Д. М. – выполнение исследования; обработка результатов; анализ литературы.

Contribution of the authors:

Chetanov N. A. – research concept; literature analysis; research execution; processing of results; writing the draft.

Litvinov N. A. – research execution; processing of results; revision of the text; final conclusions.

Ganshchuk S. V. – research execution; processing of results.

Galiulin D. M. – research execution; processing of results; literature analysis.

МИКРОБИОЛОГИЯ

Научная статья

УДК 579.26: 579.222

doi: 10.17072/1994-9952-2023-3-242-249

Особенности деструкции дизельного топлива штаммом *Rhodococcus* sp. NDT23 в условиях повышенной солености

Алексей Владимирович Назаров^{1✉, 2}, Анна Александровна Пьянкова³,
Екатерина Сергеевна Корсакова^{4, 5}

^{1, 3, 4} Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал ПФИЦ УрО РАН, Пермь, Россия

^{2, 5} Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

^{1✉, 2} nazarov@iegm.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4753-4061>

³ annpjankva@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2210-783x>

^{4, 5} camomille-08@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6907-7562>

Аннотация. Исследован процесс биодеструкции дизельного топлива (ДТ) в условиях повышенной солености среды с помощью галотолерантного штамма *Rhodococcus* sp. NDT23, выделенного из загрязненного ДТ образца почвы, отобранной на расстоянии 3 м от солеотвала предприятия ПАО «Уралкалий» (г. Соликамск, Пермский край, Россия). На основе анализа гена 16S рРНК показано, что штамм NDT23 филогенетически близок *Rhodococcus fascians* DSM 20669^T и *Rhodococcus cercidiphylli* YIM 65003^T (сходство 100%). Установлено наличие у штамма NDT23 гена алкан-1-монооксигеназы (*alkB*), имеющего наибольшее сходство (99.10–100%) с *alkB*-генами родококков, выделенных из почвы и тканей растений. Выявлено положительное влияние NaCl в концентрации 50 г/л на биодеструкцию длинноцепочечных (C₁₄–C₂₀) углеводородов в составе ДТ, обусловленное увеличением гидрофобности клеточной стенки родококков.

Ключевые слова: дизельное топливо, деструкция, *Rhodococcus*, хлорид натрия, засоление

Для цитирования: Назаров А. В., Пьянкова А. А., Корсакова Е. С. Особенности деструкции дизельного топлива штаммом *Rhodococcus* sp. NDT23 в условиях повышенной солености // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2023. Вып. 3. С. 242–249. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2023-3-242-249>.

Благодарности: работа выполнена в рамках государственного задания, номер госрегистрации темы: АААА-А19-119112290009-1.

MICROBIOLOGY

Original article

Peculiarities of diesel fuel degradation by strain *Rhodococcus* sp. NDT23 under high salinity conditions

Alexey A. Nazarov^{1✉, 2}, Anna A. Pyankova³, Ekaterina S. Korsakova^{4, 5}

^{1, 3, 4} Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Perm, Russia

^{2, 5} Perm State University, Perm, Russia

^{1✉, 2} nazarov@iegm.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4753-4061>

³ annpjankva@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2210-783x>

^{4, 5} camomille-08@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6907-7562>

Abstract. Degradation of diesel fuel by the halotolerant strain *Rhodococcus* sp. NDT23 under increased salinity conditions was studied. The strain NDT23 was isolated from diesel-contaminated soil sample which collected at a distance of 3 m from the salt dump of the plant of PJSC Uralkali (Solikamsk, Perm region, Russia). On the basis of 16S rRNA gene analysis it was shown that the strain NDT23 is phylogenetically close to *Rhodococcus fascians* DSM 20669^T and *Rhodococcus cercidiphylli* YIM 65003^T (100% similarity). The presence of alkane-1-monoxygenase (*alkB*) gene in the strain NDT23 was found to have the highest similarity (99.10–100%) with *alkB* genes of *Rhodococcus* strains isolated from soil and plant tissues. The ability of the strain NDT23 to degrade diesel fuel (DF) in the medium without salt and at concentrations up to 100 g/L NaCl was detected. A positive effect of NaCl at a concentration of 50 g/L on the degradation of DT by the studied strain was revealed. Moreover, the presence of NaCl in the medium improved the biodegradation of long-chain hydrocarbons (C₁₄-

C₂₀) by the strain NDT23 to a greater extent than short-chain hydrocarbons (C₉-C₁₃). It is shown that such an increase in the degradation activity of the strain NDT23 is due to an increase in the hydrophobicity of their cell walls in the presence of NaCl in the medium.

Keywords: diesel fuel, degradation, *Rhodococcus*, sodium chloride, salinity

For citation: Nazarov A. V., Pyankova A. A., Korsakova E. S. [Peculiarities of diesel fuel degradation by strain *Rhodococcus* sp. NDT23 under high salinity conditions]. *Bulletin of the Perm University. Biology*. Iss. 3 (2023): pp. 242-249. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2023-3-242-249>.

Acknowledgments: the work was carried out within the state task (AAAA-A19-119112290009-1).

Введение

В настоящее время нефтепродукты являются наиболее распространенными и опасными загрязнителями окружающей среды. Одним из перспективных биотехнологических направлений очистки окружающей среды от органических загрязнителей является биодеструкция с помощью микроорганизмов [Abatenh et al., 2017; Xu et al., 2018; Tarfeen et al., 2022]. Для разработки методов очистки загрязненных природных объектов большое значение имеют исследования деструкции нефтепродуктов микроорганизмами. В ряде случаев эффективность данного метода ограничивается экстремальными условиями среды, в частности высоким засолением [Abed, Al-Kharusi, Al-Hinai, 2015; Edbeib, Wahab, Huyop, 2016; Khalid et al., 2021]. Актинобактерии рода *Rhodococcus* характеризуются способностью к биодegradации самых разнообразных углеводов, а также устойчивостью к экстремальным условиям среды, что обуславливает их потенциал в использовании в качестве биопрепаратов для очистки загрязненной среды от нефтепродуктов [Brzeszcz, Kaszycki, 2018]. Особенностью нефтепродуктов как загрязнителей является сложный состав. Так, в дизельном топливе (ДТ) обнаружены тысячи соединений с числом атомов углерода от 8–12 до 25–27, преимущественно – насыщенные углеводороды. Влияние засоления на биодegradацию ДТ, в том числе отдельных углеводородных фракций представителями рода *Rhodococcus* изучено недостаточно [Brzeszcz, Kaszycki, 2018].

Цель работы – исследование особенностей деструкции дизельного топлива галотолерантным штаммом *Rhodococcus* sp. NDT23 в условиях повышенной солености.

Материалы и методы

В качестве объекта исследования использовали штамм *Rhodococcus* sp. NDT23 из коллекции лаборатории микробиологии техногенных экосистем «ИЭГМ УрО РАН», выделенный из загрязненной ДТ дерново-подзолистой почвы с техногенным хлоридно-сульфатным натриево-кальциевым засолением. Образец почвы был отобран на расстоянии 3 м от солеотвала (г. Соликамск, Пермский край, Россия). Координаты участка отбора проб: широта 59°38'00.1", долгота 056°45'13.2". Концентрация ДТ в почве составляла 5.7%, pH – 7.6, содержание водорастворимых солей – 1.3%.

Для культивирования бактерий использовали минеральную среду Раймонда (MCP) следующего состава (г/л): NH₄NO₃ – 2.0, MgSO₄ × 7H₂O – 0.2, K₂HPO₄ – 2.0, Na₂HPO₄ – 3.0, CaCl₂ × 6H₂O – 0.01, Na₂CO₃ – 0.1, дополненную 1% раствором MnSO₄ × 2H₂O – 2 мл/л и 1% раствором FeSO₄ × 7H₂O – 1 мл/л среды [Raymond, 1961]. Для приготовления богатой среды Раймонда (BCP) в MCP добавляли 5 г/л триптона («VWR Life Science Amresco», США) и 2.5 г/л дрожжевого экстракта («Biospringer», Франция) в качестве ростовых субстратов. Для приготовления плотной среды вносили агар («Helicon», Россия) до конечной концентрации 15 г/л.

Морфологические и физиологические признаки бактерий определяли при выращивании на агаризованной BCP с добавлением 30 г/л NaCl. Культивирование проводили в термостате при температуре 28°C. Характеристики роста штамма при разных значениях pH определяли при концентрации 30 г/л NaCl в буферных системах, приготовленных на основе BCP. Штаммы культивировали на агаризованной среде BCP при pH 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0, 10.0. Для оценки роста при разных температурах штамм культивировали в диапазоне температур от 4 до 40 °C. Рост учитывали на седьмой день культивирования. [Методы ..., 1983].

Рост бактерий на MCP с ДТ оценивали при культивировании в жидких средах без добавления NaCl и с содержанием 30, 50, 70, 100 г/л NaCl. ДТ вносили в MCP до конечной концентрации 1 г/л. Инокулятом служила культура, выращенная при 28°C на агаризованной BCP с 30 г/л NaCl. Биомассу бактерий ресуспендировали в MCP, содержащей 30 г/л NaCl. Полученную суспензию бактериальных клеток (ОП₆₀₀=1.0) добавляли в 100 мл среды в количестве 1% об./об.

Для оценки роста штамма на BCP без добавления NaCl и с содержанием 30, 50, 70, 100 г/л NaCl инокулят культуры готовили как описано выше.

Культивирование штамма осуществляли в колбах объемом 250 мл на термостатируемом шейкере Environmental Shaker Incubator ES-20/60 («BioSan», Латвия) при температуре 28°C и скорости вращения

140 об/мин. Рост бактериальных клеток оценивали при определении оптической плотности культуральной жидкости (ОП₆₀₀) на спектрофотометре UV-Visible BioSpec-mini («Shimadzu», Япония) при длине волны 600 нм в кювете с длиной оптического пути 1 см. Удельную скорость роста (μ, ч⁻¹) рассчитывали по стандартной формуле

$$\mu = (\ln B_2 - \ln B_1) / (t_2 - t_1),$$

где B_1 и B_2 – оптические плотности культуры в моменты времени t_1 и t_2 , соответственно [Нетрусов, 2005].

Через 14 сут. культивирования бактерий в МСР измеряли остаточную концентрацию ДТ в среде в хлороформенных экстрактах на газовом хроматографе Agilent 7890В («Agilent», США) с трехквартупольным масс-спектрометром Agilent 7010В («Agilent», США) и кварцевой колонкой RESTEK RTx-5MS («Restek», США). В качестве газа-носителя использовали гелий, скорость потока составляла 1 мл/мин, температура испарителя 260°C. Программирование подъема температуры от 130°C (3-минутная экспозиция), нагрев до 280°C со скоростью 10°C/мин. Анализ хроматограмм проводили с помощью программы MSD Productivity ChemStation («Agilent», США). Содержание углеводов оценивали по площадям пиков в сравнении с площадью пиков контрольного образца ДТ, а также хлороформенных растворов индивидуальных углеводов.

Гидрофобность клеточной поверхности (Н, %) определяли с использованием MATH-теста [Rosenberg, 1984; Maneerat, Dikit, 2007].

Для амплификации гена *alkB*, кодирующего алкан-1-монооксигеназу, использовали вырожденные праймеры TS2S и Deg1RE [Smits et al., 1999]. В качестве положительного контроля использовали ДНК штамма *Rhodococcus wratislaviensis* KT112-7, в геноме которого содержится *alkB* (GenBank CP072193). Амплификацию осуществляли на приборе C1000 Touch™ Thermal Cycler («Bio-Rad Laboratories», США) согласно условиям [Smits et al., 1999]. Определение нуклеотидной последовательности гена *alkB* проводили с использованием набора реактивов Big Dye Terminator Cycle Sequencing Kit v. 3.1 («Applied Biosystems», США) на автоматическом секвенаторе Genetic Analyser 3500XL («Applied Biosystems», США) согласно рекомендациям производителя. Анализ нуклеотидной последовательности осуществляли с применением программ Sequence Scanner v 2.0 и MEGA 6.0 (<http://www.megasoftware.net>). Поиск гомологичных последовательностей проводили в международной базе данных GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Statistica 6.0.

Результаты и их обсуждение

Штамм NDT23 при культивировании на агаризованной БСР формировал округлые колонии оранжевого цвета диаметром 2–4 мм с ровным краем, гладкой поверхностью, выпуклым профилем, блестящей поверхностью, однородной структурой и мягкой консистенцией. Клетки штамма грамположительные, каталазо-положительные, оксидазо-отрицательные, имеют цикл развития «палочки-кокки». Исследуемый штамм рос при температуре 4–37°C, pH 5.0–9.0. На основе анализа фрагмента гена 16S рРНК (937 п.н.) установлено, что штамм NDT23 проявлял сходство на уровне 100% со штаммами *Rhodococcus fascians* DSM 20669^T и *Rhodococcus cercidiphylli* YIM 65003^T. Нуклеотидная последовательность гена 16S рРНК штамма NDT23 депонирована в базе данных GenBank под номером ON527782.

Как видно из данных, приведенных в табл. 1, штамм NDT23 способен к росту в жидкой МСР с ДТ в качестве единственного источника углерода и энергии.

Таблица 1

Параметры роста клеток *Rhodococcus* sp. NDT23 в БСР и МСР с дизельным топливом при различных концентрациях хлорида натрия
[Growth parameters of the *Rhodococcus* sp. strain NDT23 in NRM and MRM with diesel fuel at different concentrations of sodium chloride]

Параметры роста	Рост штамма в БСР				Рост штамма в МСР с ДТ (1 г/л)			
	Концентрация NaCl, г/л							
	0	30	50	70	0	30	50	70
Удельная скорость роста (ч ⁻¹)	0.052 ±0.002	0.058 ±0.003	0.047 ±0.002	0.019 ±0.002	0.030 ±0.004	0.017 ±0.003	0.007 ±0.002	0.003 ±0.001
Максимальное значение ОП ₆₀₀	2.03	2.1	2.17	2.04	0.98	1.08	0.92	0.69
Лаг-фаза роста (ч)	48	48	72	100	46	46	96	263

Амплификация гена алкан-1-монооксигеназы (*alkB*), ключевого фермента аэробной деградации *n*-алканов (компонентов ДТ), с использованием вырожденных праймеров TS2S и Deg1RE [Smits et al., 1999] приводила к наработке ПЦР-продукта ожидаемого размера (около 550 п.н.). Сравнительный анализ последовательности гена *alkB* штамма *Rhodococcus* sp. NDT23 с гомологичными последовательностями

из базы данных GenBank показал наибольшее (99.10–100%) сходство с *alkB*-генами штаммов рода *Rhodococcus*, выделенных из почвы и тканей растений (рис. 1).

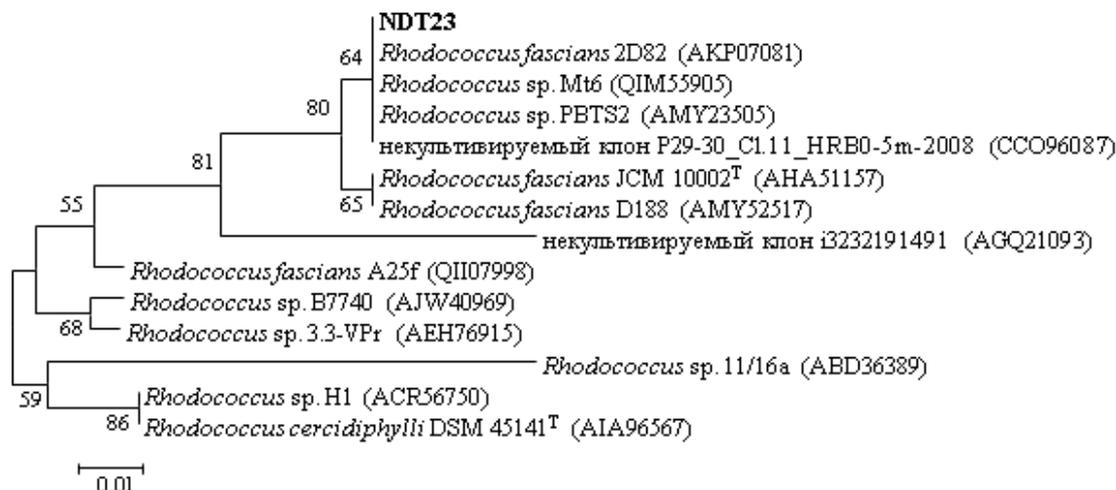


Рис. 1. Положение *alkB*-гена *Rhodococcus* sp. NDT23 на филогенетическом дереве, построенном на основании сравнительного анализа транслированных аминокислотных последовательностей *alkB*-генов с использованием метода «neighbor-joining». Эволюционные расстояния рассчитаны с использованием метода «p-distance».

Цифрами показана статистическая достоверность порядка ветвления, установленная с помощью «bootstrap»-анализа 1 000 альтернативных деревьев (приведены значения выше 50%). Масштаб соответствует 1 аминокислотной замене на каждые 100 аминокислот. В скобках указаны номера в базе данных GenBank

[The position of the *alkB* gene of *Rhodococcus* sp. NDT23 on a phylogenetic tree constructed based on a comparative analysis of the translated amino acid sequences of the *alkB* genes using the “neighbor-joining” method. The evolutionary distances were computed using the “p-distance” method.

The numbers show the statistical significance of the branching order, established using a “bootstrap” test of 1000 alternative trees (values above 50% are given). The scale corresponds to 1 amino acid substitution for every 100 amino acids. Numbers in the GenBank database are given in parentheses]

Штамм NDT23 при культивировании в БСР и МСР способен расти как без NaCl, так и при концентрации соли до 70 г/л (рис. 2А, В). Наибольший рост культуры отмечен в БСР и МСР с ДТ без добавления хлорида натрия и при 30 г/л NaCl. Дальнейшее увеличение концентрации NaCl в обеих средах приводило к замедлению роста культуры. Однако в случае использования среды БСР повышение солёности оказывало меньшее негативное воздействие на рост бактериальных клеток, чем в МСР с ДТ (см. табл. 1). Так, если при концентрации NaCl 70 г/л в БСР удельная скорость роста снижалась в 2.7 раза, максимальная ОП₆₀₀ не изменялась, лаг-фаза роста увеличивалась в 2.1 раза относительно роста штамма в БСР без NaCl, то при росте штамма NDT23 в среде МСР с ДТ при содержании NaCl 70 г/л удельная скорость роста уменьшалась в 10.0 раз, максимальная ОП₆₀₀ – в 1.4 раза, а продолжительность лаг-фазы роста культуры увеличивалась в 5.7 раза.

При культивировании *Rhodococcus* sp. NDT23 на среде с добавлением 30 и 70 г/л NaCl отличия в скорости деструкции ДТ в сравнении с вариантом опыта без добавления NaCl, не обнаружены, в то же время в присутствии 50 г/л NaCl в среде убыль углеводов ДТ увеличивалась в 1.4 раза (рис. 3А). Наименьший (в 3.1 раза ниже в сравнении с культивированием штамма NDT23 в среде без NaCl) уровень утилизации углеводов ДТ выявлен при содержании NaCl в среде 100 г/л, при этом рост бактериальной культуры не обнаруживался (рис. 2В).

Положительное влияние в среде NaCl в количестве 50 г/л на деструкцию ДТ проявлялось вследствие увеличения уровня разложения длинноцепочечных (C₁₄–C₂₀) углеводов, содержание которых в среде снижалось в 1.2–2.5 раза относительно контрольного варианта без добавления NaCl (табл. 2). В то же время положительный эффект повышенной солёности среды на биодegradацию короткоцепочечных (C₉–C₁₃) углеводов не выявлен (табл. 2). Ранее [de Carvalho, 2012] при исследовании деструкции индивидуальных насыщенных (C₁₂–C₁₆) углеводов клетками *Rhodococcus erythropolis* было показано положительное воздействие NaCl в концентрациях до 5% на биодegradацию длинноцепочечных (C₁₂–C₁₆) *n*-алканов при отсутствии аналогичного влияния NaCl в данных концентрациях на биодеструкцию короткоцепочечных (C₆–C₁₁) *n*-алканов. Выявленную закономерность авторы связывали с повышением гидрофобности поверхности бактериальных клеток.

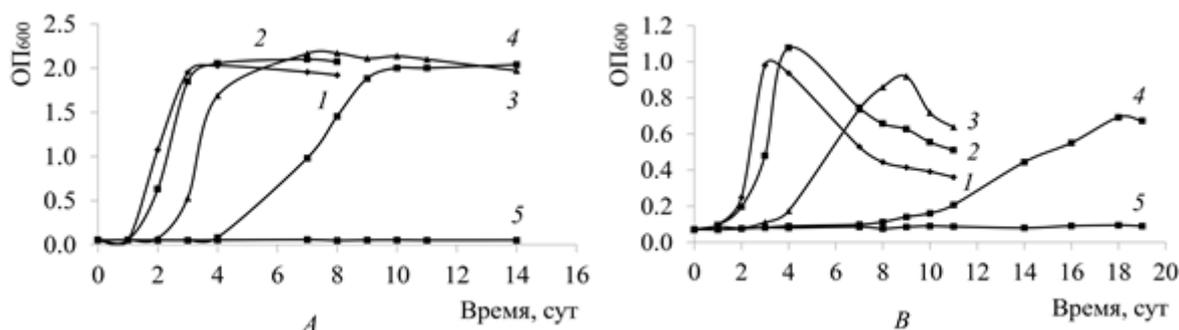


Рис. 2. Рост клеток *Rhodococcus* sp. NDT23 в питательной среде БСР (А) и МСР (В) с дизельным топливом (1 г/л) при различных концентрациях NaCl (г/л):

1 – 0; 2 – 30; 3 – 50; 4 – 70; 5 – 100

[Growth of the *Rhodococcus* sp. strain. NDT23 in NRM (A) and MRM (B) with diesel fuel (1 g/L) at different NaCl concentrations (g/L):

1 – 0; 2 – 30; 3 – 50; 4 – 70; 5 – 100]

Таблица 2

Остаточное содержание (% от начальной концентрации) углеводов ДТ после 14 сут. роста клеток *Rhodococcus* sp. NDT23

[Residual content (% of the initial concentration) of DF hydrocarbons after 14 days of cultivation of the *Rhodococcus* sp. strain NDT23]

Концентрация NaCl в среде, г/л	Количество атомов углерода в углеводороде					
	9	10	11	12	13	14
0	13.0±4.5	17.1±4.7	32.3±3.0	38.8±3.3	65.2±5.9	75.4±4.9
30	10.3±1.8	17.4±4.6	33.5±3.0	41.8±2.1	54.8±5.1	70.5±5.4
50	14.5±2.2	20.4±2.3	33.4±4.6	31.4±4.4	52.8±6.5	65.5±5.9
70	11.4±2.6	26.0±3.1	16.7±3.9	66.6±3.3	61.0±4.9	63.1±4.6
100	63.7±8.1	59.1±5.2	80.1±8.7	93.6±11.6	94.7±16.3	95.1±10.2
Концентрация NaCl в среде, г/л	Количество атомов углерода в углеводороде					
	15	16	17	18	19	20
0	76.7±5.8	80.1±6.9	108.7±8.6	101.5±8.6	106.9±12.6	93.2±7.8
30	56.8±3.6	67.9±9.8	63.2±6.7	60.7±8.2	58.3±9.2	64.5±11.5
50	42.8±5.2	43.8±4.2	44.5±4.1	43.6±5.3	43.2±3.2	41.6±3.2
70	57.7±7.0	57.3±4.2	67.4±5.0	67.9±6.6	52.8±4.9	42.1±6.9
100	98.0±9.4	94.0±9.5	98.5±8.2	97.3±7.2	94.9±9.8	91.6±5.3

Как видно из рис. 3В, с повышением концентрации NaCl в средах БСР и МСР, содержащих ДТ, происходило увеличение гидрофобности поверхности клеток *Rhodococcus* sp. NDT23. Так, гидрофобность бактериальных клеток при культивировании в среде БСР, содержащей 50 и 70 г/л NaCl, увеличивалась в 1.7 и 1.9 раза в сравнении с таковой клеток, выращенных без добавления NaCl. Аналогичное повышение (в 1.3 и 1.6 раза) гидрофобности клеток *Rhodococcus* sp. NDT23 отмечено при культивировании их в среде МСР, содержащей 50 и 70 г/л NaCl, соответственно.

Согласно немногочисленным литературным данным, бактерии характеризуются различными изменениями степени гидрофобности клеточной поверхности под действием засоления. Снижение гидрофобности клеток в условиях засоления выявлено у *Halomonas elongata* [Hart, Vreeland, 1988], *Erythrobacter* sp. [Longang, Buck, Kirkwood, 2016], *Exiguobacterium* sp. [Cao et al., 2020], а увеличение – у представителей рода *Rhodococcus* [Рубцова, Куюкина, Ившина, 2012; Longang, Buck, Kirkwood, 2016] и у почвенных актиномицетов [Zahir et al., 2016]. При этом гидрофобность клеточной поверхности галотолерантных штаммов родококков возрастала с увеличением концентрации NaCl в среде, тогда как гидрофобность клеток *Rhodococcus* spp., не устойчивых к повышенной солености среды, снижалась или не изменялась [Рубцова, Куюкина, Ившина, 2012].

Известно, что степень гидрофобности клеточной стенки играет важную роль в адсорбции микроорганизмами углеводородов и их поглощении, поэтому рост в присутствии углеводородных субстратов сопровождается повышением гидрофобности клеток у многих актинобактерий, в том числе представителей *Dietzia* и *Rhodococcus* [Bredholt et al., 2002; de Carvalho et al., 2007; Hvidstena et al., 2015]. В нашем случае, увеличение гидрофобности клеточной поверхности *Rhodococcus* sp. NDT23 при концентрации 50 г/л NaCl в среде (рис. 3А) способствовало повышению скорости биодеградации длинноцепочечных алканов

(C₁₄–C₂₀) в составе ДТ, которые имеют большую гидрофобность, чем короткоцепочечные углеводороды (C₉–C₁₃) (табл. 2).

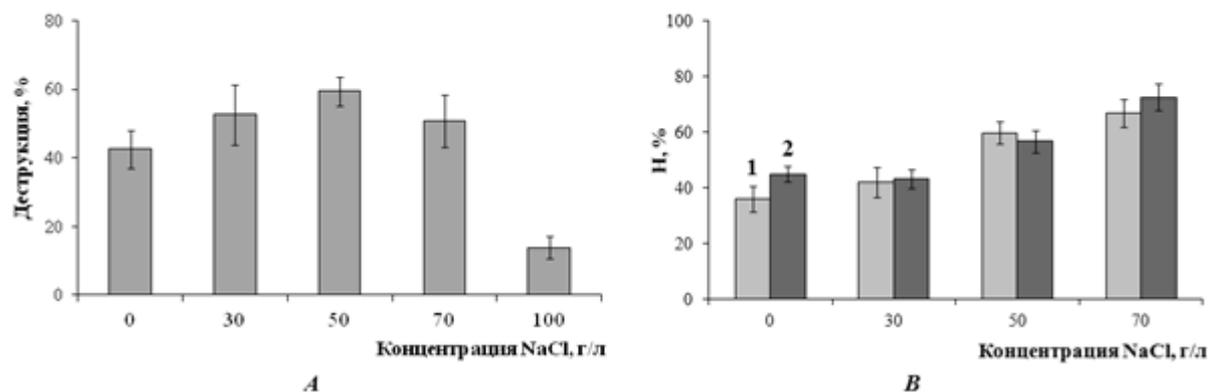


Рис. 3. Влияние различных концентраций NaCl на деструкцию ДТ (А) и гидрофобность клеточной поверхности (Н, %) *Rhodococcus* sp. NDT23 (В) при росте на среде БСР (1) и МСР (2) с добавлением ДТ (1 г/л) через 14 сут. культивирования
 [The influence of different concentrations of NaCl on the destruction of DF (A) and cell surface hydrophobicity (H, %) of *Rhodococcus* sp. NDT23 (B) on NRM (1) and MRM (2) with diesel fuel (1 g/L) after 14 days of cultivation]

Уменьшение скорости биодеструкции ДТ при дальнейшем повышении содержания NaCl в среде до 70 и 100 г/л, очевидно, обусловлено снижением скорости роста и накопления биомассы *Rhodococcus* sp. NDT23 (рис. 2В). Таким образом, в нашей работе показано, что повышенная соленость среды влияет на процесс деструкции родококками углеводородов (C₉–C₂₀) в составе ДТ аналогично биодegradации индивидуальных углеводородов (C₆–C₁₆) клетками *R. erythropolis* [de Carvalho, 2012]. Подтверждено предположение о положительном влиянии солености среды на биодеструкцию углеводородов вследствие повышения гидрофобности клеточной поверхности *Rhodococcus* [de Carvalho, 2012]. Противоположная ситуация отмечена в работе [Сао et al., 2020], в которой при увеличении солености среды происходило снижение гидрофобности клеточной поверхности *Exiguobacterium* sp. N4-1P, что приводило к уменьшению скорости бактериальной деструкции длинноцепочечных алканов, однако, при этом повышалась степень деградация более водорастворимого нафталина.

Заключение

Таким образом, исследованный нами штамм *Rhodococcus* sp. NDT23 способен к эффективному росту на среде с ДТ в присутствии NaCl до 70 г/л и деградации углеводородов ДТ при концентрациях NaCl до 100 г/л. Показано, что с увеличением концентрации NaCl в среде возрастает гидрофобность клеточной поверхности штамма NDT23, что, в свою очередь, приводит к увеличению деструкции ДТ при содержании в среде NaCl в количестве 50 г/л. При этом наличие NaCl в среде в большей степени увеличивало разложение штаммом *Rhodococcus* sp. NDT23 длинноцепочечных углеводородов (C₁₄–C₂₀), чем короткоцепочечных (C₉–C₁₃). Штамм *Rhodococcus* sp. NDT23 может быть использован для разработки биотехнологических методов очистки засоленных экосистем, загрязненных ДТ.

Список источников

1. Методы общей бактериологии: пер. с англ. / под ред. Ф. Герхардта с соавт. М.: Мир, 1983. Т. 1–3.
2. Нетрусов А.И. Практикум по микробиологии. М.: Академия, 2005. 608 с.
3. Рубцова Е.В., Куюкина М.С., Ившина И.Б. Влияние условий культивирования на адгезивную активность родококков к *n*-гексадекану // Прикладная биохимия и микробиология. 2012. Т. 48, № 5. С. 501–509.
4. Abatenh E. et al. Application of microorganisms in bioremediation-review // J. Env. Microbiol. 2017. Vol. 1(1). P. 2–9.
5. Abed R.M.M., Al-Kharusi S., Al-Hinai M. Effect of biostimulation, temperature and salinity on respiration activities and bacterial community composition in an oil polluted desert soil // Int. Biodeter. Biodegr. 2015. Vol. 98. P. 43–52.
6. Bredholt H. et al. Hydrophobicity development, alkane oxidation, and crude-oil emulsification in a *Rhodococcus* species // Can. J. Microbiol. 2002. Vol. 48(2). P. 295–304.
7. Brzeszcz J., Kaszycki P. Aerobic bacteria degrading both *n*-alkanes and aromatic hydrocarbons: an undervalued strategy for metabolic diversity and flexibility // Biodegrad. 2018. Vol. 29(4). P. 359–407.

8. Cao Y. et al. Microbial eco-physiological strategies for salinity-mediated crude oil biodegradation // *Sci. Total. Environ.* 2020. Vol. 727. P. 1–7.
9. de Carvalho C.C.C.R. Adaptation of *Rhodococcus erythropolis* cells for growth and bioremediation under extreme conditions // *Res. Microbiol.* 2012. Vol. 163. P. 125–136.
10. de Carvalho C.C.C.R. et al. Adaptation of *Rhodococcus erythropolis* cells to high concentrations of toluene // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2007. Vol. 76. P. 1423–1430.
11. Edbeib M.F., Wahab R.A., Huyop F. Halophiles: biology, adaptation, and their role in decontamination of hypersaline environments // *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2016. Vol. 32(8). P. 1–23.
12. Gharibzahedi S.M.T., Razavi S.H., Mousavi M. Potential applications and emerging trends of species of the genus *Dietzia*: a review // *Ann. Microbiol.* 2014. Vol. 64. P. 421–429.
13. Hart D.J., Vreeland R.H. Changes in the hydrophobic-hydrophilic cell surface character of *Halomonas elongata* in response to NaCl // *J. Bacteriol.* 1988. Vol. 170. P. 132–135.
14. Hvidsten I. et al. Fatty acids in bacterium *Dietzia* sp: grown on simple and complex hydrocarbons determined as FAME by GC-MS // *Chem. Phys. Lipids.* 2015. Vol. 190. P. 15–26.
15. Khalid F.E. et al. Bioremediation of diesel contaminated marine water by bacteria: a review and bibliometric analysis // *J. Mar. Sci. Eng.* 2021. Vol. 9(2). P. 1–19.
16. Longang A., Buck C., Kirkwood K.M. Halotolerance and effect of salt on hydrophobicity in hydrocarbon-degrading bacteria // *Environ. Technol.* 2016. Vol. 37(9). P. 1133–1140.
17. Maneerat S., Dikit P. Characterization of cell-associated bioemulsifier from *Myroides* sp. SM1, a marine bacterium // *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 2007. Vol. 29(3). P. 769–779.
18. Rosenberg M. Bacterial adherence to hydrocarbons: a useful technique for studying cell surface hydrophobicity // *FEMS Microbiol. Lett.* 1984. Vol. 22. P. 289–295.
19. Smits T.H.M. et al. Molecular screening for alkane hydroxylase genes in gram-negative and gram-positive strains // *Environmental Microbiology.* 1999. Vol. 1(4). P. 307–317.
20. Tarfeen N. et al. Microbial remediation: a promising tool for reclamation of contaminated sites with special emphasis on heavy metal and pesticide pollution: a review // *Proces.* 2022. Vol. 10. P. 1–27.
21. Xu X. et al. Petroleum hydrocarbon-degrading bacteria for the remediation of oil pollution under aerobic conditions: a perspective analysis // *Front. Microbiol.* 2018. Vol. 9. P. 1–11.
22. Zahir H. et al. Effect of salinity on the adhesive power actinomycetes in soil // *J. Mater. Environ Sci.* 2016. Vol. 7(9). P. 3327–3333.

References

1. Gerhardt F., ed. *Metody obščej bakteriologii* [Methods of general bacteriology]. Moscow, Mir Publ., 1983. V. 1-3. (In Russ.).
2. Netrusov A.I. *Praktikum po mikrobiologii* [Practicum on microbiology]. Moscow, Akademiya Publ., 2005. 608 p. (In Russ.).
3. Rubtsova E.V., Kuyukina M.S., Ivshina I.B. Effect of cultivation conditions on the adhesive activity of *Rhodococcus* cells towards *n*-hexadecane. *Appl. Biochem. Microbiol.* V. 48(5) (2012): pp. 452-459.
4. Abatenh E., Gizaw B., Tsegaye Z., Wassie M. Application of microorganisms in bioremediation-review. *J. Env. Microbiol.* V. 1(1) (2017): pp. 2-9.
5. Abed R.M.M., Al-Kharusi S., Al-Hinai M. Effect of biostimulation, temperature and salinity on respiration activities and bacterial community composition in an oil polluted desert soil. *Int. Biodeter. Biodegr.* V. 98 (2015): pp. 43-52.
6. Bredholt H., Bruheim P., Potocky M., Eimhjellen K. Hydrophobicity development, alkane oxidation, and crude-oil emulsification in a *Rhodococcus* species. *Can. J. Microbiol.* V. 48(2) (2002): pp. 295-304.
7. Brzeszcz J., Kaszycki P. Aerobic bacteria degrading both *n*-alkanes and aromatic hydrocarbons: an undervalued strategy for metabolic diversity and flexibility. *Biodegrad.* V. 29(4) (2018): pp. 359-407.
8. Cao Y., Zhang B., Zhu Z., Song X., Cai Q., Chen B., Ye X. Microbial eco-physiological strategies for salinity-mediated crude oil biodegradation. *Sci. Total. Environ.* V. 727 (2020): pp. 1-7.
9. de Carvalho C.C.C.R. Adaptation of *Rhodococcus erythropolis* cells for growth and bioremediation under extreme conditions. *Res. Microbiol.* V. 163 (2012): pp. 125-136.
10. de Carvalho C.C.C.R., Fatal V., Alves S.S., da Fonseca M.M.R. Adaptation of *Rhodococcus erythropolis* cells to high concentrations of toluene. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* V. 76 (2007): pp. 1423-1430.
11. Edbeib M.F., Wahab R.A., Huyop F. Halophiles: biology, adaptation, and their role in decontamination of hypersaline environments. *World J. Microbiol. Biotechnol.* V. 32(8) (2016): pp. 1-23.
12. Gharibzahedi S.M.T., Razavi S.H., Mousavi M. Potential applications and emerging trends of species of the genus *Dietzia*: a review. *Ann. Microbiol.* V. 64 (2014): pp. 421-429.
13. Hart D.J., Vreeland R.H. Changes in the hydrophobic-hydrophilic cell surface character of *Halomonas elongata* in response to NaCl. *J. Bacteriol.* V. 170 (1988): pp. 132-135.

14. Hvidsten I., Mjøs S.A., Bødtker G., Barth T. Fatty acids in bacterium *Dietzia* sp: grown on simple and complex hydrocarbons determined as FAME by GC-MS. *Chem. Phys. Lipids*. V. 190 (2015): pp. 15-26.
15. Khalid F.E., Lim Z.S., Sabri S., Gomez-Fuentes C., Zulkharnain A., Ahmad S.A. Bioremediation of diesel contaminated marine water by bacteria: a review and bibliometric analysis. *J. Mar. Sci. Eng.* V. 9(2) (2021): pp. 1-19.
16. Longang A., Buck C., Kirkwood K.M. Halotolerance and effect of salt on hydrophobicity in hydrocarbon-degrading bacteria. *Environ. Technol.* V. 37(9) (2016): pp. 1133-1140.
17. Maneerat S. Dikit P. Characterization of cell-associated bioemulsifier from *Myroides* sp. SM1, a marine bacterium. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* V. 29(3) (2007): pp. 769-779.
18. Rosenberg M. Bacterial adherence to hydrocarbons: a useful technique for studying cell surface hydrophobicity. *FEMS Microbiol. Lett.* V. 22 (1984): pp. 289-295.
19. Smits T.H.M., Röthlisberger M., Witholt B., van Beilen J.B. Molecular screening for alkane hydroxylase genes in gram-negative and gram-positive strains. *Environmental Microbiology*. V. 1(4) (1999): pp. 307-317.
20. Tarfeen N., Nisa K.U., Hamid B., Bashir Z., Yattoo A.M., Dar M.A., Mohiddin F.A., Amin Z., Ahmad R.A., Sayyed R.Z. Microbial remediation: a promising tool for reclamation of contaminated sites with special emphasis on heavy metal and pesticide pollution: a review. *Proces.* V. 10 (2022): pp. 1-27.
21. Xu X., Liu W., Tian S., Wang W., Qi Q., Jiang P., Gao X., Li F., Li H., Yu H. Petroleum hydrocarbon-degrading bacteria for the remediation of oil pollution under aerobic conditions: a perspective analysis. *Front. Microbiol.* V. 9 (2018): pp. 1-11.
22. Zahir H., Hamadi F., Mallouki B., Imzilen B., Latrache H. Effect of salinity on the adhesive power actinomycetes in soil. *J. Mater. Environ Sci.* V. 7(9) (2016): pp. 3327-3333.

Статья поступила в редакцию 18.09.2023; одобрена после рецензирования 02.10.2023; принята к публикации 02.10.2023.

The article was submitted 18.09.2023; approved after reviewing 02.10.2023; accepted for publication 02.10.2023.

Информация об авторах

А. В. Назаров – кандидат биологических наук, доцент, старший научный сотрудник, доцент кафедры ботаники и генетики растений;

А. А. Пьянкова – младший научный сотрудник;

Е. С. Корсакова – кандидат биологических наук, научный сотрудник, доцент кафедры ботаники и генетики растений.

Information about the authors

A. V. Nazarov – candidate of biological sciences, associate professor, senior researcher, associate professor of the Department of Botany and Plant Genetics;

A. A. Pyankova – junior researcher;

E. S. Korsakova – candidate of biological sciences, researcher, associate professor of the Department of Botany and Plant Genetics.

Вклад авторов:

Назаров А. В. – концепция исследования; экспериментальная работа; статистическая обработка материала; написание исходного текста; итоговые выводы.

Пьянкова А. А. – экспериментальная работа; статистическая обработка материала; написание исходного текста.

Корсакова Е. С. – доработка текста.

Contribution of the authors:

Nazarov A. V. – research concept; experimental work; statistical processing of material; writing the source text; final conclusions.

Pyankova A. A. – experimental work; statistical processing of material; writing the source text.

Korsakova E. S. – text revision.

МИКРОБИОЛОГИЯ

Научная статья

УДК 579.61

doi: 10.17072/1994-9952-2023-3-250-258

Антибактериальная активность экстрактов из цветков космеи дваждыперистой (*Cosmos bipinnatus* Cav.) в отношении некоторых клинических изолятов

Е. А. Юртаева¹✉, Е. В. Утяганова¹, Е. О. Куличенко¹, Э. Т. Оганесян¹,
А. М. Темирбулатова¹

¹ Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ВолгГМУ, Пятигорск, Россия

Автор, ответственный за переписку: Екатерина Алексеевна Юртаева, tyrkova.katerina@yandex.ru

Аннотация. Цель исследования – изучение антибактериальной активности спиртовых и водных экстрактов из цветков двух сортов космеи дваждыперистой (*Cosmos bipinnatus* Cav.) – ‘Rosea’ и ‘Dazzler’ в отношении клинических штаммов *S. aureus* II, *S. pneumoniae* UEV-1, *E. coli* 89, *K. pneumoniae* SES 11/02. Проведенные исследования показали, что изучаемые экстракты, как в отношении грамположительных, так и грамотрицательных штаммов, проявляют бактериостатическую активность. В отношении *S. aureus* при концентрации 0.08 мкг/мл выявлена бактериостатическая активность экстрактов № 5, 11, 12. Экстракт № 6 показал антимикробное действие только при высоких концентрациях 0.96–0.8 мкг/мл. Активность в отношении *S. pneumoniae* проявил экстракт № 6 в диапазоне концентраций 0.96–0.32 мкг/мл; он уступал в антибактериальном действии препарату сравнения в высоких дозировках. Высокая бактериостатическая активность выявлена у экстракта № 12 в отношении *E. coli*, где степень подавления роста относительно контроля составляла 70%, что соответствовало минимальной изученной концентрации (0.02 мкг/мл). Препарат сравнения уступал в действии экстракту № 12 и демонстрировал сравнимый эффект при концентрации 128 мкг/мл. В отношении *K. pneumoniae* наилучший результат показал экстракт № 12: при наименьшей концентрации 0.02 мкг/мл он демонстрировал процент подавления роста 60%, что сопоставимо с препаратом сравнения цефтриаксон в концентрации 32 мкг/мл. Лидером явился водный экстракт № 12, полученный из цветков космеи дваждыперистой сорта ‘Dazzler’, проявивший бактериостатическую активность в отношении грамположительных и грамотрицательных тест-культур. Наиболее интенсивное действие исследованные экстракты показали в отношении грамотрицательной флоры.

Ключевые слова: космея дваждыперистая, условно-патогенная микрофлора, антибактериальная активность, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*

Для цитирования: Антибактериальная активность извлечений из цветков космеи дваждыперистой (*Cosmos bipinnatus* Cav.) в отношении некоторых клинических изолятов / Е. А. Юртаева, Е. В. Утяганова, Е. О. Куличенко, Э. Т. Оганесян, А. М. Темирбулатова // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2023. Вып. 3. С. 250–258. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2023-3-250-258>.

MICROBIOLOGY

Original article

Antibacterial activity of extracts from the flowers of the double-feathered cosmea (*Cosmos bipinnatus* Cav.) in relation to some clinical isolates

Е. А. Yurtayeva¹✉, Е. В. Utyaganova¹, Е. О. Kulichenko¹, Е. Т. Oganesyanyan¹,
А. М. Temirbulatova¹

¹ Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute is a branch of the Volgograd State Medical University, Pyatigorsk, Russia
Corresponding author: Ekaterina A. Yurtayeva, tyrkova.katerina@yandex.ru

Abstract. The article is devoted to study the antibacterial activity of alcoholic and aqueous extracts from the flowers of two varieties of double-feathered cosmea (*Cosmos bipinnatus* Cav.) – ‘Rosea’ and ‘Dazzler’ in relation to clinical strains of *S. aureus* II, *S. pneumoniae* UEV-1, *E. coli* 89, *K. pneumoniae* SES 11/02. The conducted studies have shown that the studied extracts, both with respect to gram-positive and gram-negative strains, exhibit bacteriostatic activity. High bacteriostatic activity of extracts No. 5, 11, 12 was detected with respect to *S. aureus* at a concentration of 0.08 mcg/ml. Extract No. 6 showed antimicrobial action only at high concentrations of

0.96-0.8 mcg/ml. The activity against *S. pneumoniae* was shown by extract No. 6 in the concentration range of 0.96-0.32 mcg/ml, it was inferior in antibacterial effect to the comparison drug in high dosages. High bacteriostatic activity was detected in extract No. 12, with respect to *E. coli*, where the degree of growth suppression relative to the control was 70%, which corresponded to the minimum studied concentration (0.02 mcg/ml). The comparison drug was inferior in action to extract No. 12 and demonstrated a comparable effect at a concentration of 128 mcg/ml. In relation to *K. pneumoniae*, extract No. 12 showed the best result at the lowest concentration of 0.02 mcg/ml, it showed a growth suppression percentage of 60%, which is comparable to the comparison drug ceftriaxone at a concentration of 32 mcg/ml. The leader was an aqueous extract No. 12 obtained from the flowers of the double-feathered cosmea of the Dazzler variety, which showed bacteriostatic activity against gram-positive and gram-negative test cultures. The most intense effect of the studied extracts was shown in relation to gram-negative flora.

Keywords: double-feathered cosmea, conditionally pathogenic microflora, antibacterial activity, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*

For citation: Yurtayeva E. A., Utyaganova E. V., Kulichenko E. O., Oganessian E. T., Temirbulatova A. M. [Antibacterial activity of extracts from the flowers of the double-feathered cosmea (*Cosmos bipinnatus* Cav.) in relation to some clinical isolates]. *Bulletin of the Perm University. Biology*. Iss. 3 (2023): pp. 250-258. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2023-3-250-258>.

Введение

Распространение устойчивости к антибиотикам среди микроорганизмов и ограниченность арсенала лекарственных средств для лечения различных видов инфекций – важная проблема общественного здравоохранения. Одним из путей, позволяющих решить данную проблему, является поиск и разработка новых противомикробных субстанций различного происхождения с новыми механизмами действия.

В настоящее время огромный интерес вызывает растительное сырье. Растительные лекарственные объекты все чаще оказываются перспективными источниками для производства лекарственных средств, благодаря меньшим побочным эффектам по сравнению с синтетическими веществами [Сибирцев, Нечипоренко, 2021]. Стоит отметить, что из почти 300 тысяч видов растений на Земле только около 10% были исследованы на разные виды биологической активности, что указывает на огромный потенциал ранее не изученных растений.

Данные литературы свидетельствуют о широком спектре биологического действия [Menut et al, 2000; Saleem et al., 2019] *Cosmos bipinnatus* Cav. Помимо эфирных масел, в литературных источниках описано наличие в космее дваждыперистой других классов соединений, потенциально обладающих антимикробной активностью (флавоноиды, фенолокислоты, дубильные вещества и др.). Однако не описано экспериментальных исследований антимикробной активности суммарных водных и водно-спиртовых экстрактов космеи дваждыперистой [Menut et al., 2000; Olajuyigbe, Ashafa, 2014; Malaka et al., 2015; Saleem et al., 2019].

Известно, что эфирное масло космеи дваждыперистой оказывает значительный ингибирующий эффект в отношении грамотрицательных и грамположительных культур. Минимальная ингибирующая концентрация для грамположительных штаммов колеблется от 0.16 до 0.31 мг/мл, тогда как показатель для грамотрицательных бактерий находится в интервале от 0.31 до 0.63 мг/мл. Эфирное масло *Cosmos bipinnatus* Cav. преимущественно состоит из монотерпенов (69.62%) и сесквитерпенов (22.73%) [Botsaris, 2007; Kaisoon, Konczak, Siriamornpun, 2012].

Цель исследования – изучение активности экстрактов из цветков *Cosmos bipinnatus* Cav. сортов ‘Rosea’ и ‘Dazzler’ в отношении некоторых, клинически выделенных, представителей условно-патогенной флоры.

Материалы и методы исследований

Учитывая перспективность *Cosmos bipinnatus* Cav., мы получили экстракты из цветков сортов ‘Rosea’ и ‘Dazzler’ (экстрагент – спирт этиловый 70%, лабораторные шифры – соответственно экстракт № 5 и экстракт № 6); водные экстракты из цветков сортов ‘Rosea’ (шифр – экстракт № 11) и ‘Dazzler’ (шифр – экстракт № 12).

В качестве тест-культур использовали клинические штаммы: *Klebsiella pneumoniae* SES 11/02 и *Escherichia coli* 89 (выделены из кишечника), *Staphylococcus aureus* II и *Streptococcus pneumoniae* UEV-1 (выделены из трофических язв больных). Идентификацию микроорганизмов проводили с помощью стрипов для биохимической идентификации микроорганизмов API 20E, API Staph, API 20 Strep (bioMérieux, Франция) с помощью программно-аппаратного комплекса BIOMIC V3 (Giles Scientific, США). Клинические штаммы любезно предоставлены авторам сотрудниками «СЭС» г. Астрахани и

ФГБУ «Научно-исследовательский институт по изучению лепры» Минздрава России (с 01.04.2022 реорганизован в форме присоединения к ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ Минздрава России).

Для культивирования штаммов, выделенных из клинического материала, использовали набор коммерческих реагентов для бактериологических исследований (питательные среды): питательный бульон для культивирования микроорганизмов сухой (ГРМ-бульон) производства ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», Оболенск (ФБУН ГНЦ ПМБ), РУ № ФСР 2007/00002; питательная среда для выделения стафилококков сухая «Стафилококкагар» (ФБУН ГНЦ ПМБ), РУ № ФСР 2011/10007; набор реагентов для бактериологических исследований «Питательная среда для выделения энтеробактерий сухая (агар Эндо-ГРМ)» (ФБУН ГНЦ ПМБ), РУ № ФСР 2007/00375; питательная среда для выделения возбудителей гнойных бактериальных менингитов сухая (ГБМ-агар) (ФБУН ГНЦ ПМБ). Питательные среды готовили в соответствии с инструкцией производителя.

Оборудование, использованное в работе: бокс микробиологической безопасности (БМБ-II-«Ламинар-С»-1,2, РФ), центрифуга (СМ-6М, Франция), термостат (Mettmert, Германия), денситометр (DEN-1 Biosan РФ), счётчик колоний лабораторный (СКМ-1, Россия), чашки Петри, пробирки, бактериологические петли, механические дозаторы, наконечники для дозаторов.

С целью выбора адекватного препарата сравнения определяли чувствительность тест-штаммов к ряду антибиотиков, применяемых в клинической практике. Для приготовления взвеси бактериальных клеток использовали суточные тест-культуры. Для этого готовили суспензию, содержащую 1.5×10^8 КОЕ/мл. Около 3–4 мл взвеси выливали на поверхность плотной среды АГВ (ООО «НИЦФ», Санкт-Петербург, РФ) в чашки Петри. Чашки подсушивали при комнатной температуре в течение 40 мин. и накладывали диски с антибиотиками. Далее чашки Петри помещали в термостат и инкубировали при $+37^\circ\text{C}$ в течение 24 ч. Учет результатов вели по диаметру зон задержки роста культуры в соответствии со стандартами производителя дисков (ООО «НИЦФ» Санкт-Петербург, РФ) [ГФ XIV, 2018].

Для исследования антибактериальной активности извлечений готовили серии разведений. Были сформированы ряды с концентрациями изучаемых экстрактов: 0.96 мкг/мл, 0.8 мкг/мл, 0.64 мкг/мл, 0.32 мкг/мл, 0.16 мкг/мл, 0.08 мкг/мл, 0.04 мкг/мл, 0.02 мкг/мл. Препараты сравнения в концентрации: 128 мкг/мл, 64 мкг/мл, 32 мкг/мл, 16 мкг/мл, 8 мкг/мл, 4 мкг/мл, 2 мкг/мл, 1 мкг/мл. Контролем служили пробирки с мясо-пептонным бульоном без возбудителя (контроль стерильности среды), с мясо-пептонным бульоном и исследуемым штаммом (положительный контроль). Взвесь бактерий каждого штамма была приготовлена из суточных культур. Использовали 0.2 мкл суспензии бактерий (0.5 по McFarland), которые добавляли в каждую пробирку с разведением исследуемого экстракта, препарата сравнения, пробирки с контролем роста. Далее посеы инкубировали в термостате при температуре $+37^\circ\text{C}$, проводили визуальную оценку: наличие мутности, пленки, взвесей, изменение цвета среды и др. Далее пробирки центрифугировали при 1 500 об/мин в течение 10 мин., удаляли надосадочную жидкость, а осадок промывали стерильным физиологическим раствором. Из каждой пробирки высевали по 0.02 мкл осадка на чашки Петри, содержащие соответствующую тест-культуре питательную среду. Инкубацию проводили в течение суток при температуре $+37^\circ\text{C}$, после чего подсчитывали выросшие колонии на лабораторном счётчике колоний, что позволяло сделать выводы об изменении жизнеспособности культуры под действием экстрактов [Навашин, Фомин, 1974]. Каждый высеv осуществляли не менее чем в шести повторностях. Статистическую обработку полученных результатов осуществляли с помощью программы «BioStat-2009» (Analist Soft Ins., США).

Результаты исследования и их обсуждение

На первом этапе исследований была изучена чувствительность тест-культур к наиболее часто применяемым антибиотикам.

В качестве препарата сравнения выбраны: азитромицин для *S. aureus* и *S. pneumoniae*; цефтриаксон для *E. coli* и *K. pneumoniae*, так как все используемые тест-штаммы обладали чувствительностью к данным препаратам.

После подбора препаратов сравнения сформированы ряды разведений и проведен посев культур на жидкие питательные среды. Через сутки инкубации провели визуальную оценку характеристик среды в каждой пробирке, при этом отмечали степень прозрачности среды, наличие или отсутствие взвеси, осадка, пленки на поверхности – любой показатель, свидетельствующий о степени или отсутствии роста тест-культуры (табл. 1).

Как видно из данных табл. 1, в пробирках с экстрактами № 5, 6, 11 в диапазоне концентраций 0.96–0.16 мкг/мл, и в пробирках с препаратом сравнения в концентрациях 128–8 мкг/мл отмечалась меньшая мутность среды. Экстракт № 12 визуально активности не показал.

В отношении штамма *S. pneumoniae* UEV-1 экстракт № 12 визуально активности, как и в первом слу-

час, не проявлял. В пробирках с экстрактом № 6 прозрачность среды наблюдалась при концентрациях 0.96–0.32 мкг/мл, что сопоставимо с препаратом сравнения в концентрациях 128–32 мкг/мл (табл. 2).

Таблица 1

Результаты посевов в мясо-пептонном бульоне *S. aureus II*

[Results of sowing in meat-peptone broth *S. aureus II*]

Извлечения	Концентрация извлечений, мкг/мл							
	0.96	0.8	0.64	0.32	0.16	0.08	0.04	0.02
Экстракт № 5	++	++	++	++	++	+++	+++	+++
Экстракт № 6	++	++	++	++	++	+++	+++	+++
Экстракт № 11	++	++	++	++	++	+++	+++	+++
Экстракт № 12	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Азитромицин	Концентрация препарата сравнения, мкг/мл							
	128	64	32	16	8	4	2	1
	++	++	++	++	++	+++	+++	+++
Контроль	+++							

Примечание. В табл. 1–4 «–» – полная прозрачность среды (отсутствие роста); «+» – слабый рост; «++» – умеренный рост; «+++» – интенсивный рост.

Таблица 2

Результаты посевов в мясо-пептонном бульоне *S. pneumoniae UEV-1*

[Results of sowing in *S. pneumoniae UEV-1* meat-peptone broth]

Извлечения	Концентрация извлечений, мкг/мл							
	0.96	0.8	0.64	0.32	0.16	0.08	0.04	0.02
Экстракт № 5	++	++	++	++	++	++	++	++
Экстракт № 6	+	+	+	+	++	++	++	+++
Экстракт № 11	++	++	++	++	++	++	++	+++
Экстракт № 12	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++
Азитромицин	Концентрация препарата сравнения, мкг/мл							
	128	64	32	16	8	4	2	1
	+	+	+	++	++	++	++	+++
Контроль	+++							

При визуальной оценке результатов посева в жидкую питательную среду *E. coli 89* выявлена активность экстракта № 12 при всех концентрациях, кроме 0.02 мкг/мл, тогда, как в отношении грамположительной флоры внешних признаков активности не наблюдали. Экстракты № 5, 6, 11 были активны в диапазоне концентраций 0.96–0.16 мкг/мл, что соответствовало активности цефтриаксона при 128–16 мкг/мл (табл. 3).

Таблица 3

Результаты посевов в мясо-пептонном бульоне *E. coli 89*

[Results of sowing in meat-peptone broth *E. coli 89*]

Извлечения	Концентрация извлечений, мкг/мл							
	0.96	0.8	0.64	0.32	0.16	0.08	0.04	0.02
Экстракт № 5	++	++	++	++	++	+++	+++	+++
Экстракт № 6	++	++	++	++	++	+++	+++	+++
Экстракт № 11	++	++	++	++	++	+++	+++	+++
Экстракт № 12	++	++	++	++	++	++	++	+++
Цефтриаксон	Концентрация препарата сравнения, мкг/мл							
	128	64	32	16	8	4	2	1
	++	++	++	++	+++	+++	+++	+++
Контроль	+++							

Скрининг в отношении *K. pneumoniae SES 11/02* показал наличие бактериостатической активности всех экстрактов в диапазоне концентраций 0.96–0.08 мкг/мл. В сравнении с экстрактами препарат сравнения цефтриаксон проявил меньшую активность. Угнетение роста культуры до «умеренного» наблюдали лишь при его высоком содержании в пробирках (табл. 4).

Пересев культуры после инкубации с экстрактами на твердые питательные среды позволяет провести количественные исследования и сделать окончательные выводы о жизнеспособности тест-культур после воздействия исследуемых субстанций.

Результаты посевов в мясо-пептонном бульоне *K. pneumoniae* SES 11/02
 [Results of sowing in meat-peptone broth *K. pneumoniae* SES 11/02]

Извлечения	Концентрация извлечений, мкг/мл							
	0.96	0.8	0.64	0.32	0.16	0.08	0.04	0.02
Экстракт № 5	++	++	++	++	++	++	++	++
Экстракт № 6	++	++	++	++	++	++	+++	+++
Экстракт № 11	++	++	++	++	++	++	++	++
Экстракт № 12	++	++	++	++	++	++	++	++
Цефтриаксон	Концентрация препарата сравнения, мкг/мл							
	128	64	32	16	8	4	2	1
Контроль	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

Исследование жизнеспособности *S. aureus* II выявило высокую активность экстрактов № 5, 11 и 12 (в отличие от первого этапа). Их МПК₅₀ отмечали при концентрации 0.08 мкг/мл. Экстракт № 6 обладал наименьшей активностью (табл. 5, рис. 1А).

Таблица 5

Активность исследуемых извлечений в отношении *S. aureus* II
 [Activity of the studied extracts in relation to *S. aureus* II]

Извлечения	Концентрация извлечений, мкг/мл							
	0.96	0.8	0.64	0.32	0.16	0.08	0.04	0.02
Количество колоний								
Экстракт № 5	341±2.40	359±1.87	370±1.60	402±1.97	424±2.35	490±2.66	509±3.21	525±2.86
Экстракт № 6	289±2.07	304±2.99	459±1.94	544±2.79	561±2.66	602±1.83	603±3.72	681±2.40
Экстракт № 11	380±2.50	390±2.48	399±2.52	410±5.85	434±2.66	480±2.66	489±1.72	499±2.59
Экстракт № 12	303±2.99	390±2.34	408±1.86	410±3.22	446±1.97	453±1.97	498±0.81	501±0.89
Азитромицин	Концентрация препарата сравнения, мкг/мл							
	128	64	32	16	8	4	2	1
Контроль	410±0.52	450±1,60	469±0,75	480±1,33	501±0,75	516±1,51	542±2,07	556±1,51

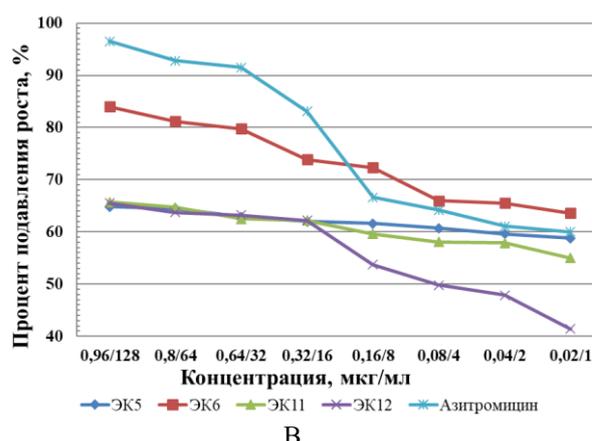
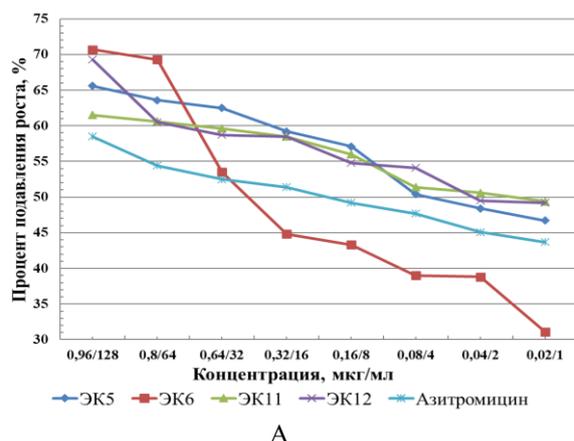


Рис. 1. Активность исследуемых экстрактов в отношении *S. aureus* II (А) и *S. pneumoniae* UEV-1 (В)
 [Activity of the studied extracts against *S. aureus* II (А) and *S. pneumoniae* UEV-1 (В)]

В отношении *S. pneumoniae* UEV-1 менее активными оказались экстракты № 12 и 11; в диапазоне концентраций 0.96–0.32 мкг/мл процент подавления роста составлял 63–60%. Наибольшую активность показал экстракт № 6 при концентрации 0.16 мкг/мл, что сопоставимо с препаратом сравнения в концентрации 8 мкг/мл (табл. 6, рис. 1 В).

В отношении *E. coli* 89 очень высокую бактериостатическую активность показал экстракт № 12, где степень подавления роста относительно контроля составила 70%, что соответствует наименьшей исследу-

дованной концентрации 0.02 мкг/мл. Экстракты № 6 и 11 были относительно менее активны, но не уступали препарату сравнения (табл. 7, рис. 2 А).

Таблица 6

Активность исследуемых извлечений в отношении *S. pneumoniae* UEV-1
[Activity of the studied extracts against *S. pneumoniae* UEV-1]

Извлечения	Концентрация извлечений, мкг/мл							
	0.96	0.8	0.64	0.32	0.16	0.08	0.04	0.02
	Количество колоний							
Экстракт № 5	418±1.22	421±1.83	440±1.03	451±0.82	456±0.82	467±1.37	480±1.09	489±0.75
Экстракт № 6	190±1.26	223±1.03	240±1.37	329±0.75	310±2.14	404±1.83	410±1.09	432±1.63
Экстракт № 11	408±1.22	419±1.17	450±1.22	445±1.47	480±2.42	498±1.33	501±1.03	535±0.63
Экстракт № 12	410±1.03	432±1.33	438±0.98	450±1.03	550±2.19	597±1.26	620±2.14	697±1.17
	Концентрация препарата сравнения, мкг/мл							
Азитромицин	128	64	32	16	8	4	2	1
	42±1.63	86±1.03	101±0.89	201±0.82	397±1.63	426±1.21	462±1.33	477±0.75
Контроль	1189±1.51							

Таблица 7

Активность исследуемых извлечений в отношении *E. coli* 89
[Activity of the studied extracts against *E. coli* 89]

Извлечения	Концентрация извлечений, мкг/мл							
	0.96	0.8	0.64	0.32	0.16	0.08	0.04	0.02
	Количество колоний							
Экстракт № 5	312±1.83	333±1.38	329±0.75	348±0.98	367±0.98	378±1.09	394±1.17	458±1.38
Экстракт № 6	285±0.75	350±1.03	352±1.33	390±0.75	490±1.03	501±0.75	500±1.03	505±2.14
Экстракт № 11	398±0.82	419±1.03	435±0.75	458±0.82	486±0.75	490±1.03	509±0.75	519±0.63
Экстракт № 12	188±0.75	190±1.03	199±1.03	210±1.03	240±0.75	245±0.75	250±0.84	290±0.75
	Концентрация препарата сравнения, мкг/мл							
Цефтриаксон	128	64	32	16	8	4	2	1
	414±1.09	450±0.82	458±1.05	470±0.75	481±1.03	490±0.75	500±1.03	503±1.26
Контроль	890±0.82							

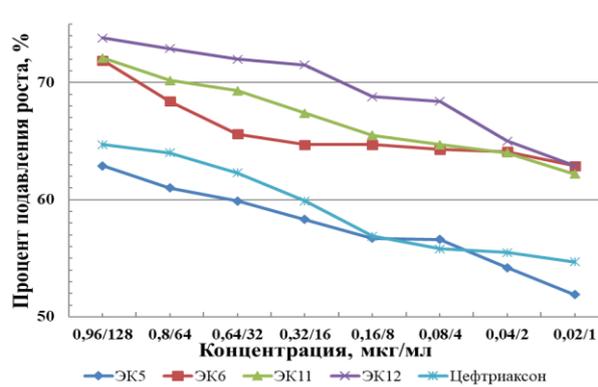
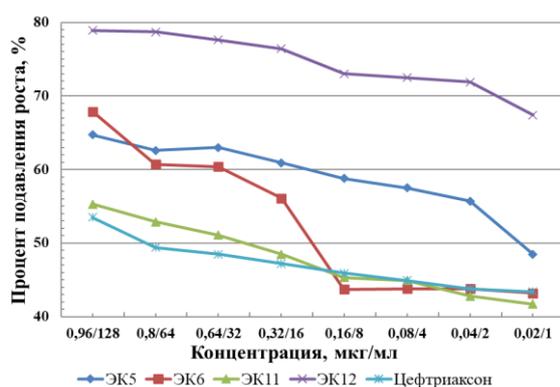


Рис. 2. Активность исследуемых экстрактов в отношении *E. coli* 89 (А) и *K. pneumoniae* SES 11/02 (В)
 [Activity of the studied extracts against *E. coli* 89 (А) и *K. pneumoniae* SES 11/02 (В)]

Все исследуемые экстракты активно подавляли рост *K. pneumoniae* SES 11/02. Экстракт № 5 действовал менее активно: в диапазоне концентраций 0.96–0.64 мкг/мл процент подавления роста составлял от 63–60%. Экстракты № 6, 11, 12 были более активны: при минимальной концентрации (0.02 мкг/мл) подавляли рост тест-культуры на 60%.

Препарат сравнения существенно уступал исследуемым экстрактам (табл. 8, рис. 2 В).

Активность исследуемых извлечений в отношении *K. pneumoniae* SES 11/02
[Activity of the studied extracts in relation to *K. pneumoniae* SES 11/02]

Извлечения	Концентрация извлечений, мкг/мл							
	0.96	0.8	0.64	0.32	0.16	0.08	0.04	0.02
	Количество колоний							
Экстракт № 5	410±0.84	431±1.75	444±1.03	461±0.75	479±1.05	480±1.03	507±0.98	532±0.98
Экстракт № 6	310±0.75	350±1.03	380±1.03	390±1.03	390±0.84	395±1.21	397±0.52	410±1.75
Экстракт № 11	309±1.03	330±1.94	339±1.05	360±1.03	381±0.75	390±0.82	398±0.75	420±0.75
Экстракт № 12	290±1.05	300±0.75	310±0.84	315±1.21	345±1.38	350±0.82	387±0.98	410±1.03
Цефтриаксон	Концентрация препарата сравнения, мкг/мл							
	128	64	32	16	8	4	2	1
	390±0.75	398±0.75	417±0.63	444±1.26	476±0.98	489±0.75	492±0.84	501±0.75
Контроль	1106±1.17							

Заключение

В результате проведенных скрининговых исследований среди вновь полученных экстрактов из цветков космеи дваждыперистой (*Cosmos bipinnatus* Cav.) сортов 'Rosea' и 'Dazzler', выявлены экстракты, обладающие активностью в отношении условно-патогенной флоры. Установлено, что все изученные экстракты в разной степени обладают способностью подавлять рост тест-микроорганизмов.

Экстракт № 12 обладает бактериостатической активностью в отношении *S. aureus* в диапазоне концентраций 0.96–0.32 мкг/мл. В отношении *E. coli* при всех изученных концентрациях экстракта процент подавления роста был не ниже 67% при самой низкой концентрации (0.02 мкг/мл), а препарат сравнения демонстрировал действие лишь при высокой концентрации (128 мкг/мл).

В отношении *K. pneumoniae* экстракт № 12 уже при наименьшей концентрации (0.02 мкг/мл) подавлял рост культуры на 65%, а препарат сравнения лишь при концентрации 64 мкг/мл показал процент подавления роста на 65%.

Экстракт № 6 обладал бактериостатической активностью в отношении *S. pneumoniae* во всех изученных концентрациях (0.96–0.02 мкг/мл) и уступал по действию только препарату сравнения в диапазоне концентраций 128–8 мкг/мл.

Экстракты № 5 и 11 сопоставимы между собой по действию в отношении *S. aureus* и *S. pneumoniae*. При высоких концентрациях процент подавления роста находился на уровне 65%, а при низких – на уровне 50%.

В отношении *E. coli* экстракт № 5 демонстрировал бактериостатическое действие в диапазоне концентраций 0.96–0.32 мкг/мл, когда препарат сравнения уступал по действию и проявлял активность только в высокой дозе (128 мкг/мл) на уровне МПК₅₅.

В отношении штамма *K. pneumoniae* экстракт № 5 проявил сниженную активность на уровне 63–53% (в диапазоне 0.96–0.02 мкг/мл), однако мало отличающуюся от уровня препарата сравнения 65–55% (в диапазоне 128–1 мкг/мл).

Результаты исследования экстракта № 11 в отношении *E. coli* показали менее интенсивное воздействие при концентрации 0.96 мкг/мл, что соответствовало МПК₅₅ и не отличалось от действия препарата сравнения цефтриаксон.

В отношении *K. pneumoniae* экстракт № 11 показал способность подавлять рост тест-культуры на 72% при концентрации 0.96 мкг/мл и на 62% – при низкой концентрации (0.02 мкг/мл), что соответствовало высокой дозировке препарата сравнения.

Таким образом, микробиологический скрининг вновь полученных экстрактов показал, что при исследованных дозировках экстракты проявляют бактериостатическую активность как в отношении грамположительной, так и в отношении грамотрицательной флоры. Несомненным лидером является экстракт № 12 (водный экстракт из цветков сорта 'Dazzler'), проявивший активность в отношении почти всех изученных штаммов, в большинстве случаев превосходящую активность препаратов сравнения.

Кроме этого, необходимо отметить, что исследованные нами экстракты проявляли наиболее интенсивное действие в отношении грамотрицательных микроорганизмов.

Следует учесть, что исследовали активность экстрактов при очень низких концентрациях, тогда как для препарата сравнения был взят стандартный ряд разведений. Это позволяет предполагать, что извлечения из цветков *Cosmos bipinnatus* Cav. обладают выраженным бактериостатическим, а при более высоких концентрациях бактерицидным действием и являются перспективными для дальнейшей разработки.

Список источников

1. Государственная фармакопея Российской Федерации / МЗ РФ. 14 изд. М., 2018. Т. 1. 1814 с.
2. Навашин С.М., Фомин И.П. Справочник по антибиотикам. М.: Медицина, 1974. 415 с.
3. Сибирцев В.С., Нечипоренко У.Ю. Методика оптико-электрохимического микробиологического тестирования в применении к сравнительному анализу пребиотических и антимикробных свойств различных растительных экстрактов // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2021. Вып. 1. С. 26–38. DOI: <https://doi.org/10.17072/1994-9952-2021-1-26-38>.
4. Botsaris A.S. Plants used traditionally to treat malaria in Brazil: the archives of Flora Medicinal // J. Ethnobiol. Ethnomed. 2007. Vol. 3, номер статьи 18. DOI: 10.1186/1746-4269-3-18.
5. Kaisoon O., Konczak I., Siriamornpun S. Potential health enhancing properties of edible flowers from Thailand. // Food Research International. 2012. Vol. 46, № 2. P. 563–571. DOI:10.1016/j.foodres.2011.06.016.
6. Malaka R. et al. Green synthesis of silver nanoparticles using Cosmos sulphureus and evaluation of their antimicrobial and antioxidant properties. // Nano Biomed. Eng. 2015. Vol. 7, № 4. P. 160–168. DOI: 10.5101/nbe.v7i4.p160-168.
7. Menut C. et al. Aromatic plants of tropical Central Africa. XXXVII. Volatile components of Cosmos atrosanguineus Staff and Cosmos bipinnatus Cav. leaves from Cameroon // Journal Essential Oil-Bearing Plants. 2000. Vol. 3. P. 65–69.
8. Olajuyigbe O., Ashafa A. Chemical Composition and Antibacterial Activity of Essential Oil of Cosmos bipinnatus Cav. Leaves from South Africa // Iranian Journal of Pharmaceutical Research. 2014. Vol. 13, № 4. P. 1417–1423. PMID: 25587332; PMCID: PMC4232809.
9. Saleem M. et al. Chemical characterisation and hepatoprotective potential of Cosmos sulphureus Cav. and Cosmos bipinnatus Cav. // Natural Product Research. 2019. Vol. 33, iss. 6. P. 1–4. DOI: 10.1080/14786419.2017.1413557.

References

1. Gosudarstvennaja farmakopeja Rossijskoj Federacii [State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIV ed.]. Moscow, 2018, V. 1. 1814 p.
2. Navashin S.M., Fomin I.P. *Spravočnik po antibiotikam* [Handbook of antibiotics]. Moscow, Medicina Publ., 1974. 415p.
3. Sibirtsev V.S., Nechiporenko U.Yu. [The technique of optical-electrochemical microbiological testing as applied to the comparative analysis of the prebiotic and antimicrobial properties of various plant extracts]. *Vestnik Permskogo universiteta. Biologija*. Iss. 1 (2021): pp. 26-38. (In Russ.). DOI: 10.17072/1994-9952-2021-1-26-38.
4. Botsaris A.S. Plants used traditionally to treat malaria in Brazil: the archives of Flora Medicinal. *J. Ethnobiol. Ethnomed*. V. 3 (2007): 18. DOI: 10.1186/1746-4269-3-18.
5. Kaisoon O., Konczak I., Siriamornpun S. Potential health enhancing properties of edible flowers from Thailand. *Food Research International*. V. 46(2) (2012): pp. 563-571. DOI: 10.1016/J.foodres.2011.06.016.
6. Malaka R., Hema J.A., Muthukumarasamy N.P., Sambandam A., Subramanian S., Sevanan M. Green synthesis of silver nanoparticles using Cosmos sulphureus and evaluation of their antimicrobial and antioxidant properties. *Nano Biomed. Eng*. V. 7(4) (2015): pp. 160-168. DOI: 10.5101/nbe. v7i4.p160-168.
7. Menut C., Bessiere J.M., Zollo P.A., Kuate J.R. Aromatic plants of tropical Central Africa. XXXVII. Volatile components of Cosmos atrosanguineus Staff and Cosmos bipinnatus Cav. leaves from Cameroon. *Journal Essential Oil-Bearing Plants*. V. 3 (2000): pp. 65-69.
8. Olajuyigbe O., Ashafa A. Chemical Composition and Antibacterial Activity of Essential Oil of Cosmos bipinnatus Cav. Leaves from South Africa. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. V. 13(4) (2014): pp. 1417-1423. PMID: 25587332; PMCID: PMC4232809.
9. Saleem M., Ali H.A., Akhtar M.F., Saleem U., Saleem A., Irshad I. Chemical characterisation and hepatoprotective potential of Cosmos sulphureus Cav. and Cosmos bipinnatus Cav. *Natural Product Research*. V. 33, iss. 6 (2019): pp. 1-4. DOI: 10.1080/14786419.2017.1413557.

Статья поступила в редакцию 06.07.2023; одобрена после рецензирования 04.09.2023; принята к публикации 02.06.2023.

The article was submitted 06.07.2023; approved after reviewing 04.09.2023; accepted for publication 02.10.2023.

Информация об авторах

Екатерина Алексеевна Юртаева – tyrkova.katerina@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1639-1881>, канд. фарм. наук, доцент кафедры микробиологии и иммунологии;

Евгения Васильевна Утяганова – uev-1@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5608-1490>, канд. фарм. наук, доцент кафедры микробиологии и иммунологии;

Евгения Олеговна Куличенко – evgenia.kuli4encko@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0727-6689>, старший преподаватель кафедры биологической химии;

Эдуард Тоникович Оганесян – edwardov@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2756-9382>, д-р фарм. наук, профессор, заведующий кафедрой органической химии;

Анна Михайловна Темирбулатова – anna_vladimir@inbox.ru, <https://orcid.org/000-0002-9588-1706>, канд. фарм. наук, доцент кафедры биологической химии.

Information about the authors

Ekaterina A. Yurtayeva – tyrkova.katerina@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1639-1881>, candidate of pharmaceutical sciences, associate professor of the Department of Microbiology and Immunology;

Evgeniya V. Utyaganova – uev-1@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5608-1490>, candidate of pharmaceutical sciences, associate professor of the Department of Microbiology and Immunology;

Evgeniya O. Kulichenko – evgenia.kuli4encko@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0727-6689>, senior lecturer of the Department of Biological Chemistry;

Eduard T. Oganessian – edwardov@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2756-9382>, doctor of pharmaceutical sciences, professor, Head of the Department of Organic Chemistry;

Anna M. Temirbulatova – anna_vladimir@inbox.ru, <https://orcid.org/000-0002-9588-1706>, candidate of pharmaceutical sciences, associate professor of the Department of Biological Chemistry.

Вклад авторов:

Юртаева Е. А. – проведение экспериментов, обработка материалов, написание исходного текста; итоговые выводы.

Утяганова Е. В. – проведение экспериментов, оформление текста статьи, итоговые выводы.

Куличенко Е. О. – получение исследуемых экстрактов.

Оганесян Э. Т. – научное руководство; концепция исследования.

Темирбулатова А. М. – обзор литературы, написание исходного текста.

Contribution of the authors:

Yurtaeva E. A. – conducting experiments, processing materials, writing the source text; final conclusions.

Utyaganova E. V. – conducting experiments, finalizing the text of the article, final conclusions.

Kulichenko E. O. – obtaining the studied extracts.

Oganessian E. T. – scientific guidance; research concept.

Temirbulatova A. M. – literature review, writing the source text.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflicts of interests.

ГЕНЕТИКА

Научная статья

УДК 575.86:582:58.088

doi: 10.17072/1994-9952-2023-3-259-273.

Генетическое разнообразие российских и европейских представителей *Dryopteris expansa* (C. Presl) Fraser-Jenkins et Jermy (*Dryopteridaceae*)

Сергей Юрьевич Малых

Гимназия № 31, Пермь, Россия, MSU101@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1478-2344>

Аннотация. Представлены результаты молекулярно-генетического анализа (ISSR-PCR) 112 особей *Dryopteris expansa* (C. Presl) Fraser-Jenkins et Jermy, собранных на территории России и Европы. При выделении ДНК использовался свежий материал и материал из гербария Южно-сибирского ботанического сада (ALTB): сбор свежего материала осуществлялся во время экспедиций (40 образцов из Пермского края, Московской, Смоленской и Тверской областей), отбор материала из гербария происходил путём изъятия визуально-пригодной для анализа части засушенной вайи (72 образца из различных регионов России и Европы). Компьютерный анализ полиморфизма ДНК и генетическая структура исследованных групп с вычислением доли (P_{95}) полиморфных локусов, абсолютного (n_a) числа аллелей, эффективного (n_e) числа аллелей, ожидаемой (H_E) гетерозиготности и информационно-энтропийной меры (I) Шеннона, проведен с помощью программы POPGENE 1.31. Для описания генетической структуры исследованных групп использованы следующие параметры: ожидаемая доля гетерозиготных генотипов (H_T) во всей группе, как мера её общего разнообразия; ожидаемая доля гетерозиготных генотипов в подгруппе (H_S), как мера её внутреннего разнообразия; доля межгруппового генетического разнообразия в общем разнообразии или показатель подразделенности (G_{ST}). В дополнение к этому использовался пакет AMOVA с вычислением показателя подразделенности групп с использованием 1 000 раундов перестановок. На основании сравнения показателей информационно-энтропийной меры Шеннона (I), подразделённости групп Нея (F_{ST}), а также внутри- и межгрупповой изменчивости по результатам анализа молекулярных вариантов (AMOVA), полученных для *D. expansa*, с аналогичными показателями, приводимыми для *D. fragrans* (L.) Schott, сделано заключение о нецелесообразности деления *D. expansa* s.l. на два самостоятельных вида – *D. expansa* s. str. и *D. assimilis* S. Walker. Приводимые в публикации показатели всех индексов и рассчитанных величин могут быть использованы в качестве основы для сравнения в других работах, посвящённых генетической изменчивости видов рода *Dryopteris* на территории России.

Ключевые слова: папоротники, систематика, *Dryopteris dilatata* комплекс, ISSR-анализ, полиморфизм ДНК

Для цитирования: Малых С. Ю. Генетическое разнообразие российских и европейских представителей *Dryopteris expansa* (C. Presl) Fraser-Jenkins et Jermy (*Dryopteridaceae*) // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2023. Вып. 3. С. 259–273. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2023-3-259-273>.

Благодарности: исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-34-90102.

GENETICS

Original article

Genetic diversity of Russian and European individuals *Dryopteris expansa* (C. Presl) Fraser-Jenkins et Jeremy (*Dryopteridaceae*)

Sergey Yu. Malyh

Gymnasium № 31, Perm, Russia, MSU101@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1478-2344>

Abstract. The results of molecular genetic analysis (ISSR-PCR) of 112 *Dryopteris expansa* (C. Presl) Fraser-Jenkins et Jermy specimens collected in Russia and Europe are presented. DNA was extracted using fresh material and material from the herbarium of the South Siberian Botanical Garden (ALTB): the collection of fresh material was carried out during expeditions (40 samples from Perm Krai, Moscow, Smolensk and Tver regions), the selection of material from the herbarium was carried out by removing a part of the dried frond (72 samples from various regions of Russia and Europe). An analysis of DNA polymorphism and the genetic structure of the

studied groups with the calculation of the proportion (P_{95}) of polymorphic loci, the absolute (n_a) number of alleles, the effective (n_e) number of alleles, the expected (H_E) heterozygosity and the information-entropy measure (I) of Shannon was carried out using the POPGENE 1.31 program. To describe the genetic structure of the studied groups, the following parameters were used: the expected proportion of heterozygous genotypes (H_T) in the entire group as a measure of its overall diversity; the expected proportion of heterozygous genotypes in a subgroup (H_S) as a measure of its internal diversity; the proportion of intergroup genetic diversity in the total diversity or the subdivision index (G_{ST}). In addition to this, the AMOVA package was used with the calculation of the subdivision index of groups using 1000 rounds of permutations. Based on a comparison of the indicators of the Shannon information measure (I), Nei fixation index (F_{ST}), as well as intra- and intergroup variability based on the results of the analysis of molecular variants (AMOVA) obtained for *D. expansa* with similar indicators given for *D. fragrans* (L.) Schott, a conclusion is made about the inexpediency of dividing *D. expansa* s.l. into two independent species – *D. expansa* s. str. and *D. assimilis* S. Walker. The indicators of all indices and calculated values given in the publication can be used as a basis for comparison in other works devoted to the genetic variability of species of the genus *Dryopteris* in Russia.

Keywords: Ferns, Systematics, *Dryopteris dilatata* complex, ISSR-analysis, DNA polymorphism

For citation: Malyh S. Yu. [Genetic diversity of Russian and European individuals *Dryopteris expansa* (C. Presl) Fraser-Jenkins et Jeremy (*Dryopteridaceae*)]. *Bulletin of Perm University. Biology*. Iss. 3 (2023): pp. 259-273. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2023-3-259-273>.

Acknowledgments: the reported study was funded by RFBR, project number 20-34-90102.

Введение

На территории России имеются виды рода *Dryopteris* Adans., чья идентификация осложнена рядом причин [Цвелев, 2003]: сходный морфологический облик представителей, полностью или практически полностью перекрывающиеся ареалы популяций, отсутствие уникальных черт скульптуры периспория и т.д. Особую сложность работа с такими природными образованиями принимает в том случае, если мы имеем дело не с парой, а с большим числом морфологически сходных видов. Примером совокупности таких видов является *Dryopteris dilatata* комплекс, включающий в настоящее время [Шмаков, 2009; Конспект флоры..., 2012], две (*Dryopteris expansa* (C. Presl) Fraser-Jenkins et Jermy, *D. dilatata* (Hoffm.) A. Gray) или три (*Dryopteris expansa*, *D. dilatata* и *D. assimilis* S. Walker) внешне практически неразличимые единицы.

История изменения представлений об объёме *Dryopteris dilatata* комплекса включает следующие ключевые даты:

В 1950 г. Ирен Мэнтон обнаружила, что таксономической единице, обозначаемой как *D. dilatata*, соответствует два разных цитотипа [Manton, 1950]. После обсуждения обозначенной проблемы [Walker, 1955, 1961], было предложено рассматривать данные цитотипы в ранге видов: *D. dilatata* s. str. и *Dryopteris assimilis* S. Walker. Основанием для этого послужили хромосомные числа: у *D. dilatata* s. str. – $2n = 128$, у *D. assimilis* – $2n = 64$. В последующие годы изменчивость морфологического облика *D. assimilis* многократно обсуждалась [Walker, Jermy, 1964; Döpp, Gätzi, 1964; Nannfeldt, 1966; Simon, Vida, 1966; Widén et al., 1967], однако каких-либо новых таксономически значимых признаков предложено не было. Из-за морфологического сходства *D. carthusiana* (Vill.) H. P. Fuchs (в то время *D. spinulosa* (Müll.) Watt), *D. dilatata*, *D. assimilis*, а также *D. cristata* (L.) A. Gray стали обозначаться как *Dryopteris spinulosa* комплекс.

В 1970 г. вышла статья [Crabbe et al., 1970] посвящённая *Dryopteris dilatata* комплексу в Британии, который, по мнению авторов, включает два аллотетраплоида с $2n = 128$ – *D. dilatata* и *D. carthusiana*, а также диплоид с $2n = 64$ – *D. assimilis*. Как видно, *Dryopteris dilatata* комплекс – это тот же *Dryopteris spinulosa* комплекс, из которого был исключён *D. cristata*.

В 1977 г. в номенклатурной записке «An Earlier Name for *Dryopteris assimilis*» [Fraser-Jenkins, Jermy, 1977] авторы доказывают, что типовой материал *N. expansum*, хранящийся в National Museum of Prague (PR), принадлежит к *D. assimilis*. Из этого следует, что для данного вида приоритетным эпитетом является *expansa*. Комбинация, предложенная авторами, следующая – *Dryopteris expansa* (C. Presl) Fraser-Jenkins & Jermy.

В 2003 г. была опубликована статья с несколько иным взглядом на объём комплекса [Цвелев, 2003]. В ней *D. expansa* s.l. разделён на два самостоятельных вида: *D. expansa* s. str. и *D. assimilis*. Последний, по мнению автора, обладает габитуальным сходством с *D. dilatata*, но отличается по более узким чешуйкам на черешках и менее интенсивным железистым опушением. Следует отметить, что данная статья является первой и, до последнего времени, последней специализированной работой, посвящённой непосредственно роду *Dryopteris* на территории России.

Начиная с 2015 г. автором настоящей статьи ведётся работа по инвентаризации рода *Dryopteris* на территории России. Исследования, проведённые за последние 9 лет, позволили сделать ряд заключений касательно видов, входящих в *Dryopteris dilatata* комплекс. Важнейшие из них [Малых, 2022]: имеется

всего один критерий (неморфологического характера), позволяющий достоверно различать *D. expansa* и *D. dilatata*; не было обнаружено ни одного критерия, позволяющего достоверно отличить выделяемый некоторыми специалистами *D. assimilis* от *D. expansa* и *D. dilatata*; *D. dilatata* – европейский тетраплоид, не проникающий на территорию России.

С целью поиска дополнительных данных, подтверждающих или опровергающих предположение о том, что *D. expansa* – это природное образование, которое не нуждается в дроблении (на *D. expansa* s.str. и *D. assimilis*, в частности), был проведён анализ генетического разнообразия¹ российских и европейских представителей данного вида.

Материал и методы

При выделении ДНК для проведения молекулярно-генетического анализа использовался свежий материал и материал из гербария Южно-сибирского ботанического сада (ALTB): сбор свежего материала осуществлялся во время экспедиций (40 образцов из Пермского края, Московской, Смоленской и Тверской областей), отбор материала из гербария происходил путём изъятия визуально-пригодной для анализа части засушенной вайи (72 образца из различных регионов России и Европы). Каждый из этих образцов был определён в одну из следующих групп: **Dr1** – Уральская, **Dr2** – Восточноевропейская, **Dr3** – Западноевропейская, **Dr4** – Алтайская, **Dr5** – Красноярский край и Республика Хакасия, **Dr6** – Бурятия и Иркутская область (табл. 1). В дальнейшем первые три группы будут обозначаться как европейские, оставшиеся три – как азиатские.

Таблица 1

Места сбора образцов *D. expansa*
[Collection locations of *D. expansa* samples]

Группа	Страна	Место сбора	Координаты
Dr1	Россия	Пермский край, Кишертский район, деревня Частые, УНБ «Предуралье», липовый лес	N 57° 22'35 E 57° 09'26
Dr1	Россия	Пермский край, Кишертский район, деревня Частые, УНБ «Предуралье», липовый лес	N 57° 22'35 E 57° 09'26
Dr1	Россия	Пермский край, Кишертский район, деревня Частые, УНБ «Предуралье», липовый лес	N 57° 22'35 E 57° 09'26
Dr1	Россия	Пермский край, Кишертский район, деревня Частые, УНБ «Предуралье», липовый лес	N 57° 22'35 E 57° 09'26
Dr1	Россия	Пермский край, Кишертский район, деревня Частые, УНБ «Предуралье», липовый лес	N 57° 22'35 E 57° 09'26
Dr1	Россия	Пермский край, Кишертский район, деревня Частые, УНБ «Предуралье», липовый лес	N 57° 22'35 E 57° 09'26
Dr1	Россия	Пермский край, Кишертский район, деревня Частые, УНБ «Предуралье», липовый лес	N 57° 22'35 E 57° 09'26
Dr1	Россия	Пермский край, Кишертский район, деревня Частые, УНБ «Предуралье», липовый лес	N 57° 22'35 E 57° 09'26
Dr1	Россия	Пермский край, Кишертский район, деревня Частые, УНБ «Предуралье», липовый лес	N 57° 22'35 E 57° 09'26
Dr1	Россия	Пермский край, Кишертский район, деревня Частые, УНБ «Предуралье», липовый лес	N 57° 22'35 E 57° 09'26
Dr1	Россия	Пермский край, Горнозаводский район, заповедник Басеги, вблизи Северной вершины, пушицево-сфагновое болото	N 58° 56'15 E 58° 26'05
Dr1	Россия	Пермский край, Горнозаводский район, заповедник Басеги, вблизи Северной вершины, пушицево-сфагновое болото	N 58° 56'15 E 58° 26'05
Dr1	Россия	Пермский край, Горнозаводский район, заповедник Басеги, вблизи Северной вершины, пушицево-сфагновое болото	N 58° 56'15 E 58° 26'05
Dr1	Россия	Пермский край, Горнозаводский район, заповедник Басеги, вблизи Северной вершины, пушицево-сфагновое болото	N 58° 56'15 E 58° 26'05
Dr1	Россия	Пермский край, Горнозаводский район, заповедник Басеги, вблизи Северной вершины, пушицево-сфагновое болото	N 58° 56'15 E 58° 26'05
Dr1	Россия	Пермский край, Горнозаводский район, заповедник Басеги, вблизи Северной вершины, еловый лес	N 58° 56'39 E 58° 31'48
Dr1	Россия	Пермский край, Горнозаводский район, заповедник Басеги, вблизи Северной вершины, еловый лес	N 58° 56'39 E 58° 31'48

¹ Анализ литературы показал, что в зарубежной и отечественной печати нет данных, содержащих оценки генетической изменчивости *D. expansa* с помощью метода ISSR PCR. Российские работы, где обсуждается генетическая изменчивость относительно близкородственных групп растений, единичны. Среди них можно выделить работы И.И. Гуреевой, Д.С. Феоктистова и А.А. Кузнецова [2018], а также З.Е. Грушецкой с соавторами [Грушецкая и др., 2013].

Продолжение табл. 1

Группа	Страна	Место сбора	Координаты
Dr3	Австрия	Земля Штирия, Глайнские Альпы, Танцмайстерграбен	N 47° 17'41 E 14° 59'45
Dr3	Австрия	Земля Штирия, Дойчландсберг, долина р. Лассниц	N 46° 48'37 E 15° 11'53
Dr3	Австрия	Земля Штирия, Хохшваб, Афленцер Штарицен, Зееберг	N 47° 37'54 E 15° 16'32
Dr3	Австрия	Земля Штирия, Хохшваб, Афленцер Штарицен, Зееберг	N 47° 37'54 E 15° 16'32
Dr3	Австрия	Земля Штирия, Глайнские Альпы, Танцмайстерграбен	N 47° 17'41 E 14° 59'45
Dr3	Германия	Северная Вестфалия, окр. г. Текленбург, буковый лес, в 20 км западнее г. Оснабрюк	N 52° 12'45 E 07° 46'44
Dr3	Германия	Земля Саксония-Анхальт, Вернигероде, горы Харц, окр. п. Ширке	N 51° 45'55 E 10° 39'58
Dr4	Россия	Республика Алтай, Чемальский район, долина реки Куюм	N 51° 30'00 E 85° 59'00
Dr4	Россия	Республика Алтай, Чемальский район, басс. р. Куба, дол. р. Каяс близ устья, скл. сев. экс	N 51° 20'00 E 86° 24'00
Dr4	Россия	Республика Алтай, окр. с. Иогач, западный склон	N 51° 46'00 E 87° 16'00
Dr4	Россия	Республика Алтай, окр. с. Иогач, западный склон	N 51° 46'00 E 87° 16'00
Dr4	Россия	Республика Алтай, окр. с. Иогач, западный склон	N 51° 46'00 E 87° 16'00
Dr4	Россия	Республика Алтай, окр. с. Иогач, западный склон	N 51° 46'00 E 87° 16'00
Dr4	Россия	Республика Алтай, Турочакский район, дол. р. Клык, окр. пос. Бийка	N 51° 54'00 E 87° 39'00
Dr4	Россия	Республика Алтай, Турочакский район, долина р. Бия, правый берег выше с. Усть-Пыжа	N 51° 50'00 E 87° 07'00
Dr4	Россия	Республика Алтай, Турочакский район, берег Телецкого озера, устье реки Бол. Эстюбе	N 51° 44'40 E 87° 26'40
Dr4	Россия	Республика Алтай, Турочакский район, дол. р. Бия, правый берег, выше села Усть-Пыжа	N 51° 50'00 E 87° 07'00
Dr4	Россия	Республика Алтай, Турочакский район, дол. р. Бия, правый берег, выше села Усть-Пыжа	N 51° 50'00 E 87° 07'00
Dr4	Россия	Алтайский край, Чарышский район, вер. теч. р. Сентелек, оз. Тёплое	N 51° 02'50 E 83° 39'00
Dr4	Россия	Алтайский край, Чарышский район, дол. р. Чарыш, левый берег, в 2 км ниже уст. р. Б. Татарка	N 51° 09'00 E 83° 54'00
Dr4	Россия	Алтайский край, Чарышский район, вер. теч. р. Сентелек, оз. Тёплое	N 51° 02'50 E 83° 39'00
Dr4	Россия	Алтайский край, Чарышский район, 5 км на юго-восток от с. Покровка. Смешанный лес в пойме р. Сентелек	—
Dr4	Россия	Алтайский край, Чарышский район, Башцелакский хр., сев-зап. макросклон г. Бахарева	N 51° 40'00 E 83° 43'00
Dr4	Россия	Алтайский край, Тигирецкий хребет, верх. р. Бол. Тигирек	N 51° 03'93 E 82° 59'24
Dr4	Россия	Алтайский край, Тигирецкий хребет, верх. р. Бол. Тигирек	N 51° 03'93 E 82° 59'24
Dr4	Россия	Алтайский край, Тигирецкий хребет, верх. р. Бол. Тигирек	N 51° 03'93 E 82° 59'24
Dr5	Россия	Красноярский край, хр. Борус, перевал из басс. р. Бол. Шушь в р. Бол. Берёзовая, южный макросклон	N 52° 56'00 E 92° 06'00
Dr5	Россия	Красноярский край, басс. р. Бол. Берёзовая, в 6 км выше уст. р. Безымянка, лев. берег, сев. макросклон	N 52° 54'00 E 92° 06'00
Dr5	Россия	Красноярский край, басс. р. Бол. Берёзовая, в 6 км выше уст. р. Безымянка, лев. Берег, сев. макросклон	N 52° 54'00 E 92° 06'00
Dr5	Россия	Красноярский край, басс. р. Бол. Берёзовая, в 6 км выше уст. р. Безымянка, лев. Берег, сев. макросклон	N 52° 54'00 E 92° 06'00
Dr5	Россия	Красноярский край, Шушенский район, хр. Борус, басс. р. Большая Шушь, дол. р. Корск	N 52° 48'00 E 92° 05'00
Dr5	Россия	Красноярский край, Шушенский район, хр. Борус, басс. р. Большая Шушь, дол. р. Корск	N 52° 48'00 E 92° 05'00
Dr5	Россия	Красноярский край, Шушенский район, хр. Борус, басс. р. Большая Шушь, дол. р. Корск	N 52° 48'00 E 92° 05'00
Dr5	Россия	Красноярский край, Шушенский район, хр. Борус, басс. р. Большая Шушь, дол. р. Корск	N 52° 48'00 E 92° 05'00
Dr5	Россия	Красноярский край, Шушенский район, хр. Борус, басс. р. Большая Шушь, дол. р. Корск	N 52° 48'00 E 92° 05'00
Dr5	Россия	Республика Хакасия, хр. Алан, северо-восточный отрог г. Бабик, склон юго-восточной экспозиции	N 52° 56'00 E 91° 23'00
Dr5	Россия	Республика Хакасия, хр. Алан, северо-восточный отрог г. Бабик, склон юго-восточной экспозиции	N 52° 56'00 E 91° 23'00

Группа	Страна	Место сбора	Координаты
Dr5	Россия	Республика Хакассия, хр. Алан, северо-восточный отрог г. Бабик, склон юго-восточной экспозиции	N 52° 56'00 E 91° 23'00
Dr5	Россия	Республика Хакассия, хр. Алан, северо-восточный отрог г. Бабик, склон юго-восточной экспозиции	N 52° 56'00 E 91° 23'00
Dr5	Россия	Республика Хакассия, хр. Алан, северо-восточный отрог г. Бабик, склон юго-восточной экспозиции	N 52° 56'00 E 91° 23'00
Dr5	Россия	Республика Хакассия, хр. Алан, северо-восточный отрог г. Бабик, склон юго-восточной экспозиции	N 52° 56'00 E 91° 23'00
Dr5	Россия	Республика Хакассия, хр. Алан, северо-восточный отрог г. Бабик, склон юго-восточной экспозиции	N 52° 56'00 E 91° 23'00
Dr5	Россия	Республика Хакассия, Джойский хр., перевал из р. Клай в р. Уй, северный макросклон	N 52° 54'00 E 91° 12'00
Dr5	Россия	Республика Хакассия, Джойский хр., перевал из р. Клай в р. Уй, северный макросклон	N 52° 54'00 E 91° 12'00
Dr6	Россия	Иркутская область, Слюдянский район, дол. р. Слюдянка, в 9 км выше гор. Слюдянка, лев. берег, тайга	N 51° 34'77 E 103°37'38
Dr6	Россия	Иркутская область, Слюдянский район, дол. р. Слюдянка, в 9 км выше гор. Слюдянка, лев. берег, тайга	N 51° 34'77 E 103°37'38
Dr6	Россия	Иркутская область, Слюдянский район, дол. р. Слюдянка, в 9 км выше гор. Слюдянка, лев. берег, тайга	N 51° 34'77 E 103°37'38
Dr6	Россия	Иркутская область, Слюдянский район, дол. р. Слюдянка, в 8 км выше гор. Слюдянка, лев. берег, тайга	N 51° 35'09 E 103°37'70
Dr6	Россия	Иркутская область, Слюдянский район, дол. р. Слюдянка, в 8 км выше гор. Слюдянка, лев. берег, тайга	N 51° 35'09 E 103°37'70
Dr6	Россия	Республика Бурятия, оз. Байкал, Прибайкальский район, окр. пос. Турка	N 52° 57'48 E 108°14'09
Dr6	Россия	Республика Бурятия, оз. Байкал, Прибайкальский район, окр. пос. Турка	N 52° 57'48 E 108°14'09
Dr6	Россия	Бурятия, Кабанский район, хр. Хамар-Дабан, дол. р. Бол. Мамай в верхнем течении	N 51° 23'70 E 104°50'29
Dr6	Россия	Бурятия, Кабанский район, хр. Хамар-Дабан, дол. р. Бол. Мамай в верхнем течении	N 51° 23'70 E 104°50'29
Dr6	Россия	Бурятия, Кабанский район, хр. Хамар-Дабан, дол. Бол. Мамай в верхнем течении	N 51° 23'70 E 104°50'29
Dr6	Россия	Бурятия, Кабанский район, хр. Хамар-Дабан, дол. Бол. Мамай в верхнем течении	N 51° 24'37 E 104°49'58
Dr6	Россия	Бурятия, Кабанский район, хр. Хамар-Дабан, дол. Бол. Мамай в верхнем течении	N 51° 24'37 E 104°49'58
Dr6	Россия	Бурятия, Кабанский район, хр. Хамар-Дабан, дол. Бол. Мамай в верхнем течении	N 51° 24'37 E 104°49'58

Выделение ДНК осуществлялось с помощью СТАВ по методике С.О. Роджерса и А.Дж. Бендича [Rogers, Bendich, 1985] с добавлением PVPP для связывания полифенолов. Навеска растительного материала не превышала 20 мг. Для оценки качества и концентрации выделенной ДНК использовался прибор Spectrofotometr™ NanoDrop 2000 («ThermoFisher Scientific», США), а также электрофорез в агарозном геле (2%). Все пробы, которые были отобраны для дальнейшего анализа, имели концентрацию ДНК 180 нг/мкл и выше (по оптическому поглощению препарата при длине волны 260 нм). Чистота препарата $\lambda_{260}/\lambda_{280}$ (соотношение между оптическим поглощением нуклеиновых кислот при λ_{260} и оптическим поглощением белков при длине волны 280 нм) была в пределах от 1.9 до 2.0.

Во время осуществления поиска наиболее эффективных праймеров, были протестированы 22 нуклеотидные последовательности (табл. 2). Первые 16 взяты из работ [Schneller, Krattinger, 2010; Bouchard et al., 2017], посвящённых ISSR-PCR анализу папоротниковидных. Последние 6 найдены в публикации, посвящённой цветковому растению [Светлакова и др., 2012]. Все отобранные для дальнейшей работы праймеры (табл. 2) показали свою эффективность, т.е. инициировали синтез наибольшего числа фрагментов ДНК и обеспечивали воспроизводимость результатов PCR.

Аmplификация ДНК проводилась в термоциклере GeneAmp PCR System 9700 («Applied Biosystems», США) по следующей программе: денатурация – 2 мин. при 94°C; первые пять циклов – 20 сек. при 94°C, затем 10 сек. при t° отжига праймера и 10 сек. при 72°C; последующие тридцать пять циклов – 5 сек. при 94°C, затем 5 сек. при t° отжига праймера и 5 сек. при 72°C; элонгация – 2 мин. при 72°C. Температура отжига праймеров варьировала от 59°C до 62°C. Продукты амплификации окрашивались бромистым этидием, разделялись электрофорезом в 2% агарозном геле с 1x TBE буфером (Tris-Borate-EDTA) и фо-

тографировались в ультрафиолетовом свете с применением системы GelDoc XR («Bio-Rad», США). Для определения длины фрагментов ДНК использовался маркер молекулярного веса ДНК Step 100 Long (14 фрагментов от 100 до 3 000 п.н., «Биолабмикс», Россия) и программа Quantity One («Bio-Rad», США).

Таблица 2

Протестированные ISSR-PCR праймеры
[Tested ISSR-PCR primers]

Праймер		t отжига, °C	Праймер		t отжига, °C
PRM_1	(AC)₈G	62	PRM_12	(CA) ₈ AG	59
PRM_2	(AG) ₈ YT	62	PRM_13	(GT) ₈ CC	56
PRM_3	(CA)₈RC	62	PRM_14	(AC) ₉ TG	59
PRM_4	(AC) ₈ YT	62	PRM_15	(CA)₈CC	59
PRM_5	(AC)₈YG	62	PRM_16	(CA) ₈ CG	59
PRM_6	(AC) ₇ AACC	62	M_1	(AC) ₈ CG	56
PRM_7	(CT) ₈ GG	56	M_2	(AC) ₈ CC	56
PRM_8	(CA)₈GG	59	M_3	(AC) ₈ CT	54
PRM_9	(GA) ₈ TC	58	X_9	(ACC) ₆ G	62
PRM_10	(CT) ₈ GC	59	X_10	(AGC) ₆ C	64
PRM_11	(CA) ₉ AC	58	X_11	(AGC) ₆ G	64

Примечание. Полуужирным шрифтом выделены эффективные ISSR-PCR праймеры.

Всего проанализирован полиморфизм 112 растений с пятью праймерами (560 проб). Для проверки достоверности полученных результатов постановка PCR повторялась не менее двух раз.

Для количественной оценки полиморфизма и определения генетической структуры изученных групп особей, полученные данные были представлены в виде матрицы бинарных признаков, в которой наличие или отсутствие в PCR спектрах одинаковых по размеру фрагментов рассматривалось как состояние 1 или 0. При этом анализировались только воспроизводимые фрагменты, полиморфизм по интенсивности не учитывался.

Компьютерный анализ полиморфизма ДНК и генетическая структура исследованных групп с вычислением доли (P_{95}) полиморфных локусов [Williams, 1990], абсолютного (n_a) числа аллелей, эффективного (n_e) числа аллелей [Kimura, Crow, 1964], ожидаемой (H_E) гетерозиготности [Nei, 1987] и информационно-энтропийной меры (I) Шеннона [Lewontin, 1972], проведены с помощью программы POPGENE 1.31 [Yeh et al., 1999]. Для описания генетической структуры исследованных групп² были использованы следующие параметры [Nei, 1975]: ожидаемая доля гетерозиготных генотипов (H_T) во всей группе, как мера её общего разнообразия; ожидаемая доля гетерозиготных генотипов в подгруппе (H_S), как мера её внутреннего разнообразия; доля межгруппового генетического разнообразия в общем разнообразии или показатель подразделенности (G_{ST}). В дополнение к этому использовался пакет AMOVA (Analysis of Molecular Variance) с вычислением Φ_{PT} -индекса (показателя подразделенности групп) с использованием 1 000 раундов перестановок [Excoffier et al., 1992]. Данный показатель был рассчитан с применением специализированного макроса GenAlEx6 для MS-Excel [Peakall, 2005]. При этом в качестве групп выступали совокупности особей, обозначенные как *Dr1–Dr6*, а в качестве регионов (для обсуждения межрегиональной подразделенности) европейская и азиатская части Евразии.

Результаты исследования

В общей выборке *D. expansa* было выявлено 72 фрагмента ДНК, 69 из которых были полиморфными ($P_{95}=0.958$). Их размеры варьировали в зависимости от праймера (рис. 1): от 500 п.н. (праймеры PRM_1 и

² Вопрос определения границ популяций растений «встречается с серьезными, подчас непреодолимыми трудностями» [Юрцев, 1987, с. 581]. Выделение амфимиктических популяций у папоротников с огромным сплошным ареалом – *D. expansa* как раз принадлежит к таким видам – затруднено, поскольку не существует работ, демонстрирующих невозможность переноса спор за пределы фитоценоза или какой-либо другой фитоценотической единицы. Напротив, имеется ряд публикаций [Perrie et al., 2010; de Groot et al., 2012], где показан перенос спор на сотни и тысячи километров от материнского растения. В добавление к этому жизнеспособность и всхожесть спор папоротников сильно превосходит аналогичные показатели, фиксируемые у пыльцы семенных растений. В связи с этим в данной работе каждая из шести исследованных групп рассматривается как природное образование, характеризующееся панмиксией входящих в него особей и, следовательно, обладающее единым генофондом. Последнее – важная характеристика, позволяющая, пусть и с определёнными допущениями, использовать в данной работе показатель подразделенности популяций (G_{ST}). Также, ряд авторов отмечает [Holsinger, Weir, 2009; Кузнецов, 2020], что если задачей исследования является анализ *текущего* генетического разнообразия (без построения филогенетических деревьев, основанных на генетических дистанциях), статистики Нея могут быть хорошей мерой дифференциации *любых* выборок живых организмов (разновидностей, линий, групп).

PRM_5) до 2 000 п.н. (праймеры PRM_3 и PRM_5). При этом доля полиморфных локусов в группах, установленная с помощью разных праймеров, варьировала от 0.167 (праймер PRM_15, в группе *Dr1*) до 1 (праймер PRM_8 и PRM_1, в группах *Dr2*, *Dr3*). Праймер PRM_15 выявил самые низкие значения полиморфизма для общей выборки ($P_{95}=0.917$), а праймеры PRM_1 и PRM_8 – самые высокие ($P_{95}=1.000$).

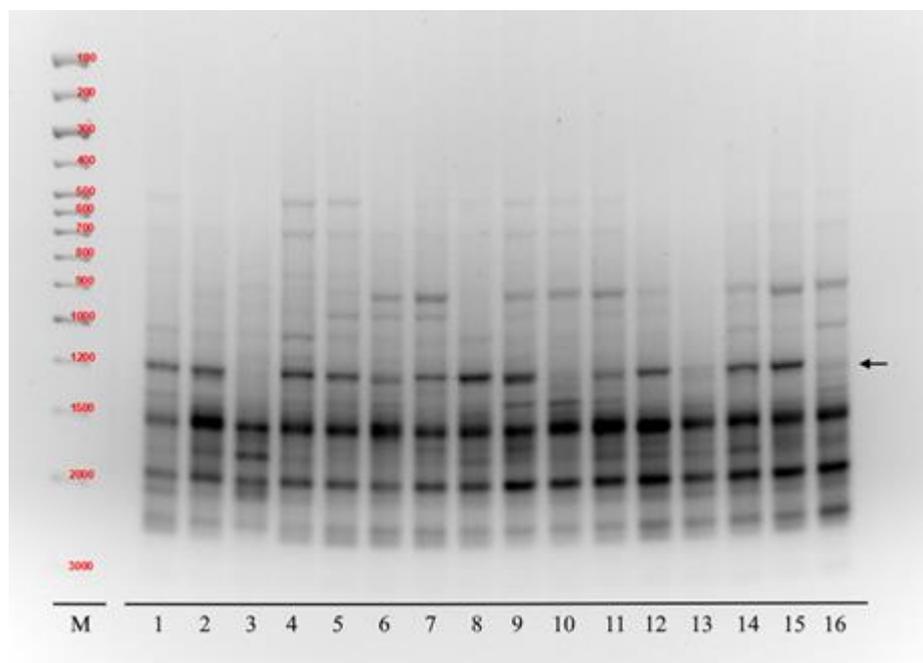


Рис. 1. Пример ISSR-PCR спектров уральских представителей *D. expansa* с праймером PRM_5 ((AC)₈ YG); Столбец №1 – маркер молекулярной массы (100–3 000 bp), стрелкой обозначен один из полиморфных фрагментов

[An example of ISSR-PCR spectra of Ural representatives of *D. expansa* with with primer PRM_5 ((AC)₈ YG); Column No. 1 is a marker of molecular weight (100-3 000 bp), an arrow indicates a polymorphic fragment]

Доля полиморфных локусов ДНК (P_{95}), полученных в результате PCR с пятью праймерами, на общую выборку составила 0.958. Данный показатель выше ($P_{95} = 0.902–0.839$) в группах *Dr1–Dr4*, и ниже ($P_{95} = 0.714–0.696$) в *Dr5* и *Dr6*. Из 72 фрагментов ДНК 2 (2.78%) являются уникальными, так как каждый из них представлен только в какой-то одной из популяций, а 70 (97.22%) – общими для всех десяти исследованных популяций. Уникальные фрагменты ДНК отмечены в группах *Dr2* и *Dr3* (табл. 3).

Таблица 3

Генетическое разнообразие рассматриваемых групп *D. expansa*
[Genetic diversity of the *D. expansa* groups]

Показатель / группа	<i>Dr1</i>	<i>Dr2</i>	<i>Dr3</i>	<i>Dr4</i>	<i>Dr5</i>	<i>Dr6</i>	На общую выборку
P_{95}	0.839	0.848	0.902	0.857	0.714	0.696	0.958
H_E	0.225 (0.025)	0.311 (0.022)	0.262 (0.022)	0.224 (0.022)	0.131 (0.021)	0.135 (0.022)	0.215 (0.010)
n_a	1.375 (0.098)	1.736 (0.071)	1.639 (0.087)	1.500 (0.095)	1.056 (0.106)	1.069 (0.105)	1.396 (0.040)
n_e	1.396 (0.048)	1.552 (0.044)	1.442 (0.042)	1.371 (0.041)	1.218 (0.039)	1.229 (0.040)	1.368 (0.018)
I	0.331 (0.035)	0.457 (0.030)	0.396 (0.030)	0.340 (0.032)	0.200 (0.031)	0.205 (0.032)	0.322 (0.014)
Un	0	1	1	0	0	0	2

Примечание. P_{95} – доля полиморфных локусов; H_E – ожидаемая гетерозиготность; n_a – абсолютное число аллелей на локус; n_e – эффективное число аллелей на локус; I – информационно-энтропийная мера Шеннона; у всех вышеуказанных параметров в скобках даны стандартные отклонения; Un – число уникальных фрагментов ДНК.

Поскольку гетерозиготность является одним из критериев оценки генетической изменчивости различных групп организмов, выявление её значений является важным элементом настоящей работы. Полученные значения следующие: средняя ожидаемая гетерозиготность (H_E) на общую выборку *Dryopteris* – 0.215. В группе *Dr2* ($H_E = 0.311$) этот показатель достигает наибольших значений, а в группе *Dr5* ($H_E = 0.131$) – наименьших. Для вычисления значения эффективного числа аллелей был произведён подсчёт

абсолютного числа аллелей (n_a). Данное значение для общей выборки составило – 1.396. Значения этого показателя в группе **Dr2** ($n_a = 1.735$) является максимальным среди имеющихся, а в группе **Dr5** ($n_a = 1.056$) – минимальным. Среди исследованных групп эффективное число аллелей выше в **Dr2** ($n_e = 1.551$), а ниже в **Dr6** ($n_e = 1.229$) и **Dr5** ($n_e = 1.218$), и в среднем составляет 1.368.

Согласно следующему важному показателю (информационно-энтропийная мера Шеннона) наибольшие значения разнообразия наблюдаются в выборке **Dr2** ($I = 0.457$), а наименьшее – в выборках **Dr5** и **Dr6** ($I = 0.200$ и 0.205). Данные различия носят достоверный характер.

Анализ генетической структуры изученных групп *Dryopteris* выявил, что ожидаемая доля гетерозиготных генотипов (H_T) на общую выборку составила 0.268, а ожидаемая доля гетерозиготных генотипов в отдельной группе по всем локусам (H_S) равна 0.212. Коэффициент подразделённости Нея (G_{ST}) показал, что на межгрупповую компоненту приходится 0.214 всего генетического разнообразия. Наибольшая подразделённость между группами *Dryopteris* установлена с использованием праймера PRM_15 (табл. 4).

Таблица 4

Генетическая структура и дифференциация рассматриваемых групп *D. expansa*
[Genetic structure and differentiation of the *D. expansa* groups]

ISSR-PCR праймер	H_T	H_S	G_{ST}
PRM_1	0,308 (0,018)	0,254 (0,016)	0,175
PRM_3	0,256 (0,028)	0,196 (0,015)	0,259
PRM_5	0,242 (0,018)	0,211 (0,018)	0,127
PRM_8	0,313 (0,021)	0,245 (0,014)	0,216
PRM_15	0,222 (0,022)	0,156 (0,010)	0,295
Вся выборка	0,268 (0,020)	0,212 (0,016)	0,214

Примечание. H_T – ожидаемая доля гетерозиготных генотипов в общей группе; H_S – ожидаемая доля гетерозиготных генотипов в отдельной группе; в скобках даны стандартные отклонения. G_{ST} – показатель подразделённости групп.

Также генетическая дифференциация между группами определялась при помощи пакета AMOVA (Analysis of Molecular Variance, анализ молекулярных вариантов) на основе Φ_{PT} -индекса, который показывает долю межгруппового генетического разнообразия в общем разнообразии и хорошо подходит для сравнения бинарных данных. Анализ молекулярных вариантов (AMOVA) подтвердил, что большая часть всего генетического разнообразия сосредоточена внутри рассматриваемых групп (72%), на долю межгрупповой изменчивости приходится 20% всего наблюдаемого генетического разнообразия. При сравнении двух регионов (Европа и Азия) обнаруживается, что их вклад в общий показатель изменчивости достаточно низок – всего 8% (табл. 5).

Таблица 5

Оценка внутри- и межгрупповой изменчивости *D. expansa* по результатам анализа молекулярных вариантов (AMOVA)

[Intra- and intergroup variability of *D. expansa* based on the results of the analysis of molecular variants (AMOVA)]

Показатель подразделённости	df	SS	MS	Дисперсия	%	p
Между регионами	1	105.756	105.756	0.955	8%	< 0.001
Между группами	4	195.293	48.823	2.282	20%	< 0.001
Внутри групп	104	881.442	8.475	8.475	72%	< 0.001

Примечание. df – степени свободы, SS – сумма квадратов, MS – среднее квадратическое отклонение, % – процент общего генетического разнообразия, p – уровень значимости при использовании 1 000 раундов перестановок.

Ключевыми показателями, которые будут использованы при обсуждении вопроса дробления *D. expansa* на два самостоятельных вида, являются: информационно-энтропийная мера Шеннона (I), коэффициент подразделённости Нея (G_{ST}) и оценка внутри- и межгрупповой изменчивости по результатам анализа молекулярных вариантов (AMOVA). Остальные показатели даются для справки. Они могут выступить основой для сравнения при проведении молекулярно-генетических исследований других представителей рода *Dryopteris* на территории России.

Обсуждение

К настоящему времени в научной среде сформировалось понимание, что данные молекулярно-генетического анализа в отрыве от оценки изменчивости морфологических структур не могут являться критерием для деления одного вида на несколько более мелких или наоборот – объединения двух близ-

ких видов в один³. При этом сами данные (абсолютные значения), используемые при работе с генетическим разнообразием, также зачастую малоинформативны, поскольку только при сравнении показателей открывается возможность для установления границ между категориями *высокая*, *средняя* и *низкая* генетическая подразделённость, *высокий*, *средний* и *низкий* полиморфизм группы и т.д.

К сожалению, корректное сравнение интересующих нас показателей возможно не всегда. Как правило, в свободной печати встречаются данные, которые лишь отчасти соответствуют параметрам исследования [Dong et al., 2008; Schneller, Krattinger, 2010; Animasaun et al., 2018]: проведён анализ родственных групп растений, организована работа со сходными объёмами выборки и сходными размерами площадей сбора материала, использовался тот же метод обработки результатов и т.д.

Принимая во внимание всё вышесказанное, перейдём к обозначению важных особенностей данной работы:

1. Анализ литературы показал, что только одна публикация содержит необходимые для сравнения показатели, которые были получены для вида, относящегося к роду *Dryopteris*. По этой причине основой для сравнения и обсуждения результатов выступит единственная работа – «Contrasting patterns of genetic variation in central and peripheral populations of *Dryopteris fragrans* and implications for colonization dynamics and conservation» [Bouchard et al., 2017]. Прочие цитируемые ниже работы приводятся для справки, их данные не могут выступать основой для корректного сравнения.

2. В рамках настоящего исследования показатели дифференциации популяций – статистика Нея (G_{ST}) и информационно-энтропийная мера Шеннона (I) – это дополнительный критерий при работе с выделением или объединением видов: в том случае, если группа обнаруживает крайнюю изменчивость на генетическом уровне⁴, можно предполагать, что она находится в активной фазе видообразования и нам следует работать над выявлением дополнительных признаков, позволяющих разделить эту группу *объективно*. В противном случае – если показатели дифференциации на низком уровне – имеет смысл рассматривать данную группу в качестве неделимой единицы⁵.

3. Обсуждаемые данные получены с использованием одного типа молекулярных маркеров, а потому все заключения, сделанные на основании этих данных, в известной степени ограничены.

Далее остановимся на ключевых показателях генетической дифференциации популяций и их использовании для работы с группами *D. expansa*.

Значения **информационно-энтропийной меры Шеннона (I)**⁶, полученные при анализе шести групп представителей рода *Dryopteris*, продемонстрировали значения 0.322 на общую выборку, которая включала растения из таких удалённых регионов как Европа, Урал и Алтай. Значение этого показателя можно считать низким, поскольку, сравнивая его с литературными данными, мы обнаруживаем, что *D. fragrans* демонстрирует чуть более высокий уровень разнообразия – 0.343 при анализе не столь удалённых Канадских и Американских популяций (регион Нунавик и штаты Нью Йорк, Нью Хэмпшир, Вермонт, Мэн). Наибольшее расстояние (по прямой) между данными популяциями не превышает 2 000 км, тогда как расстояние между группами, рассматриваемыми в данной работе, составляет более 6 500 км.

Принимая во внимание то обстоятельство, что споры папоротниковидных могут распространяться на расстояния нескольких сотен и даже тысяч километров [Pettie et al., 2010; de Groot et al., 2012], можно сделать предположение, что между удалёнными популяциями идёт обмен генетической информацией. Данные о внутригрупповой, межгрупповой и межрегиональной подразделённости (рис. 2) свидетельствуют о том, что такой вариант не исключён, поскольку вклад межрегиональной изменчивости в изменчивость общей выборки крайне низок – всего 8%. Напротив, аналогичные результаты, полученные для *D. fragrans*, демонстрируют, что межрегиональные различия (Канада и Америка) достигают порядка 70%, межпопуляционные различия – около 18% и, наконец, внутривидовые всего 12%. Если исключить межрегиональный перенос генетической информации, остаётся предполагать низкую динамику изменчивости *D. expansa* в сравнении с *D. fragrans*.

³ Об этом, в частности, свидетельствует сравнение данных, полученных в рамках молекулярно-генетических исследований, с классическими работами по систематике той или иной группы папоротников [см., например, Sessa et al., 2012; Vujnoch, 2015]. В таких работах данные молекулярной генетики являются *дополнительными* в том смысле, что они корректируют классическую систему, а не формируют новую с нуля.

⁴ Например, можно говорить о разных географических расах, если чётко прослеживается, что *общая* изменчивость исследованных экземпляров растений складывается в основном из различий особей *между* удалёнными популяциями, а не особями *внутри* одной ценопопуляции.

⁵ Из положений синтетической теории эволюции следует, что новые виды возникают в результате дифференциации популяций. Мы можем фиксировать этот процесс или его результат как изменение генофонда группы особей или их морфологического облика.

⁶ Данное значение есть степень нашей неосведомлённости о группе, что соразмерно её сложности или внутреннему разнообразию [Кузнецов, 2022].



Рис. 2. Диаграмма генетической изменчивости рассматриваемых представителей *D. expansa*, построенная на основании полиморфизма последовательностей ДНК
 [A diagram of the genetic variability of the representatives of *D. expansa*, based on the polymorphism of DNA sequences]

Несмотря на достаточно высокое *абсолютное* значение показателя индекса Шеннона, оно всё равно на *относительно* низком уровне, поскольку географические расстояния между рассматриваемыми группами очень велики. Среди других папоротников, которые были исследованы с помощью ISSR праймеров, значение информационно-энтропийной меры Шеннона, следующие:

1. *Botrychium pumila* (в пределах от 0.158 до 0.246 для различных популяций) [Camacho, Liston, 2001]. В данном исследовании анализировалась три популяции *Botrychium pumicola* (всего 99 особей) в национальном лесу Дешут, США. Расстояния между ними не превышали нескольких километров.

2. *Ceratopteris thalictroides* (в пределах от 0.100 до 0.230 для различных популяций) [Dong et al. 2008]. В данном исследовании анализировалось 13 популяций *Ceratopteris thalictroides* (всего 225 особей) из различных регионов Китая (Центральный, Западный, Южный, Юго-Восточный и о. Хайнань). Расстояние между популяциями не превышает 1 500 км.

3. *Ceratopteris pteridoides* (в пределах от 0.195 до 0.265 для различных популяций) [Dong et al., 2010]. В данном исследовании проанализированы 5 популяций *Ceratopteris pteridoides* (всего 72 особей) из регионов Хубей и Цзянси, Китай. Расстояние между ними не превышает 500 км.

Аналогичные значения имеет **показатель подразделённости групп Нея (F_{ST})**. В исследовании *D. fragrans* общее значение этого показателя было на уровне 0.213. Значение данного показателя для *D. expansa* – 0.214 (для всей выборки). Если учесть, что одним из критериев вида, находящегося в состоянии активного видообразования, является уровень его генетической разнородности, то, проанализировав полученные результаты (F_{ST}) и (I), можно прийти к выводу, что либо оба вида (*D. expansa* и *D. fragrans*) находятся в состоянии активного видообразования, либо оба вида – это эволюционно стабилизировавшиеся группы со сходным относительно высоким⁷ уровнем генетической дифференциации. Последняя точка зрения кажется более предпочтительной, поскольку находит подтверждение в рамках классического анализа морфологических признаков⁸.

Заключение

Сравнение показателей индексов Шеннона (I), Нея (F_{ST}), а также низкие уровни различий на генетическом уровне между представителями всех исследованных групп позволяют заключить, что деление такого вида как *D. expansa* s. l. на *D. expansa* s. str. и *D. assimilis* нецелесообразно.

⁷ Хочется отметить, что установление объективно выделенных границ для таких категорий, как *высокая* и *низкая* генетическая разнородность для той или иной группы, популяции и, наконец, вида внутри рода *Dryopteris*, станет возможна только после анализа всех или большей части видов данного рода. Особенно интересны в этом отношении другие представители *D. dilatata* комплекса.

⁸ Подробное обсуждение данных признаков было сделано ранее [Малых, 2022].

1. Используемая в настоящем исследовании информационно-энтропийная мера Шеннона (I) демонстрирует значение 0.322 на всю выборку для шести исследованных групп. Поскольку выборка включала растения из таких удалённых регионов как Европа, Урал и Алтай, значение этого показателя можно считать низким. Сравнивая значение меры Шеннона с литературными данными, мы обнаруживаем, что *D. fragrans* демонстрирует чуть более высокий уровень разнообразия – 0.343 при анализе не столь удалённых канадских и американских популяций (регион Нунавик и штаты Нью Йорк, Нью Хэмпшир, Вермонт, Мэн). Здесь стоит обратить внимание на то, что показатели данных видов сопоставимы, т.е. *D. expansa* (предполагаемая к разделению природная единица) настолько же генетически разнороден, что и *D. fragrans* (неделимая природная единица).

2. Аналогичные значения имеет показатель подразделённости групп Нея (F_{ST}). В исследовании *D. fragrans* общее значение этого показателя было на уровне 0.213. Значение данного показателя для *D. expansa* – 0.214 (для всей выборки). При этом, как уже было отмечено выше, *D. expansa*, обнаруживающий значительную изменчивость морфологического облика, предлагается разделить, а *D. fragrans*, менее морфологически изменчивый вид, признаётся неделимой единицей.

3. Оценка внутри- и межгрупповой изменчивости по результатам анализа молекулярных вариантов (АМОВА) показала, что основные различия сосредоточены внутри исследованных групп – 72%, а межрегиональные различия (Европа и Азия) не превышают 8%. Аналогичные результаты для *D. fragrans* следующие – 13% между особями внутри популяции, 69% – различия между регионами (США и Канада)⁹. Как видно, на основании данного показателя именно *D. fragrans*, а не *D. expansa* можно было бы подвергнуть делению на две ясно отграниченные географические расы.

Список источников

1. Грушецкая З.Е. и др. Использование ISSR-анализа для изучения внутри- и межвидового генетического полиморфизма различных таксонов высших растений // Вестник БГУ. Сер 2. 2013. № 3. С. 50–56.
2. Гуреева И.И., Феоктистов Д.С., Кузнецов А.А. Опыт применения молекулярного анализа в демографических исследованиях папоротников // Систематические и флористические исследования Северной Евразии. М., 2018. Т. 1. С. 172–175.
3. Конспект флоры Восточной Европы. / под ред. Н.Н. Цвелева. М.; СПб.: Т-во науч. изд. КМК, 2012. Т. 1. 630 с.
4. Кузнецов В.М. Методы Нея для анализа генетических различий между популяциями // Проблемы биологии продуктивных животных. 2020. № 1. С. 91–110.
5. Кузнецов В.М. Информационно-энтропийный подход к анализу генетического разнообразия популяций (аналитический обзор) // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. 2022. Т. 23, № 2. С. 159–173.
6. Малых С.Ю. Род *Dryopteris* Adans. в Европейской части России // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2022. Вып. 3. С. 189–200.
7. Светлакова Т.Н. и др. Генетическая дифференциация популяций *Populus tremula* L. в Пермском крае на основании полиморфизма ISSR-маркеров // Аграрный вестник Урала. 2012. Вып. 3. С. 11–13.
8. Цвелев Н.Н. О роде *Dryopteris* Adans. (*Dryopteridaceae*) в Восточной Европе // Новости систематики высших растений. 2003. Т. 35. С. 7–20.
9. Шмаков А.И. Определитель папоротников России. 2-е изд., перераб. и допол. Барнаул: АРТИКА, 2009. 126 с.
10. Юрцев Б.А. Популяции растений как объект геоботаники, флористики, ботанической географии // Ботанический журнал. 1987. Т. 72, № 5. С. 581–588.
11. Animasaun D.A. et al. Polymorphism and genetic diversity assessment of some ornamental ferns by microsatellite (ISSR) markers // J. Appl. Hortic. 2018. Vol. 20, № 3. P. 237–241.
12. Bouchard J.R. et al. Contrasting patterns of genetic variation in central and peripheral populations of *Dryopteris fragrans* (Fragrant wood fern) and implications for colonization dynamics and conservation // International Journal of Plant Sciences. 2017. Vol. 178, № 8. P. 607–617.
13. Bujnoch W. A contribution to the phylogeny of *Dryopteris remota* by genotyping of a fragment of the nuclear PgiC gene // Fern. Gaz. 2015. Vol. 20, Part 2. P. 79–89.
14. Camacho F.J., Liston A. Population structure and genetic diversity of *Botrychium pumicola* (*Ophioglossaceae*) based on inter-simple sequence repeats (ISSR) // Am. J. Bot. 2001. Vol. 88. P. 1065–1070.
15. Crabbe J.A., Jermy A.C., Walker S. Distribution of *Dryopteris assimilis* S. Walker in Britain // Watsonia. 1970. Vol. 8. P. 3–15.
16. Döpp W., Gätzi W. Der Bastard zwischen tetraploider und diploider *Dryopteris dilatata* // Ber. Schweiz. Bot. Ges. 1964. Vol. 74. P. 45–53.

⁹ Причиной данных различий может быть низкая динамика изменчивости *D. expansa* в сравнении с *D. fragrans* и особенности постледниковой реколонизации северных регионов Евразии особями *D. expansa*. Данный тезис является предположением и требует подтверждения в рамках специального исследования.

17. de Groot G.A. et al. Diverse spore rains and limited local exchange shape fern genetic diversity in a recently created habitat colonized by long-distance dispersal // *Ann. Bot.* 2012. Vol. 109. P. 965–978.
18. Dong Y.-H. et al. Genetic variation in the endangered aquatic fern *Ceratopteris thalictroides* (*Parkeriaceae*) in China: implications from RAPD and ISSR data // *Bot. J. Linn. Soc.* 2008. Vol. 157. P. 657–671.
19. Dong Y.-H., Gituru R.W., Wang Q.-F. Genetic variations and gene flow in the endangered aquatic fern *Ceratopteris pteridoides* in China, and conservation implications // *Ann. Bot. Fennici.* 2010. Vol. 47. P. 34–44.
20. Ellstrand N.C., Elam D.R. Population genetic consequences of small population size: implications for plant conservation // *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 1993. Vol. 24. P. 217–242.
21. Excoffier L., Smouse P.E., Quattro J.M. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data // *Genetics.* 1992. Vol. 131, № 2. P. 479–491.
22. Fraser-Jenkins C.R., Jermy A.C. Nomenclatural notes on *Dryopteris*: 2 // *Fern Gaz.* 1977. Vol. 11, № 5. P. 338–340.
23. Holsinger K.E., Weir B.S. Genetics in geographically structured populations: defining, estimating and interpreting F_{ST} // *Nat. Rev. Genet.* 2009. Vol. 10. P. 639–650.
24. Kimura M., Crow J.F. The number of alleles that can be maintained in a finite population // *Genetics.* 1964. Vol. 49, № 2. P. 725–738.
25. Leimu R. et al. How general are positive relationships between plant population size, fitness and genetic variation? // *J. Ecol.* 2006. Vol. 94. P. 942–952.
26. Lewontin R.C. The apportionment of human diversity // *Ev. Biol.* 1972. Vol. 6. P. 381–398.
27. Manton I. Problems of Cytology and Evolution in the Pteridophyta. Cambridge: Cambridge University Press, 1950. 316 p.
28. Nannfeldt J.A. *Dryopteris dilatata* och *Dr. assimilis* i Sverige // *Bot. Not.* 1966. Vol. 119. P. 136–152.
29. Nei M. Genetic distance between populations // *Amer. Naturalist.* 1972. Vol. 106. P. 283–292.
30. Nei M. Molecular population genetics and evolution. Amsterdam, Oxford: North-Holland Publishing Company, 1975. 288 p.
31. Nei M. Molecular Evolutionary Genetics. New York: Columbia University Press, 1987. 615 p.
32. Nei M., Li W.-H. Mathematical model for studying genetic variation in terms restriction endonucleases // *PNAS, Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1979. Vol. 76. P. 5269–5273.
33. Peakall R. GenA1Ex6: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research // *Mol. Ecol. Not.* 2005. Vol. 6, № 1. P. 288–295.
34. Perrie L.R. et al. Tasmanian and Victorian populations of the fern *Asplenium hookerianum* result from independent dispersal from New Zealand // *Aust. Syst. Bot.* 2010. Vol. 23, № 6. P. 387–392.
35. Rogers S.O., Bendich A.J. Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues // *Plant Mol. Biol.* 1985. Vol. 5, № 2. P. 69–76.
36. Sessa E.B., Zimmer E.A., Givnish T.J. Unraveling reticulate evolution in North American *Dryopteris* (*Dryopteridaceae*) // *BMC Evol. Biol.* 2012. Vol. 12. P. 104–127.
37. Schneller J.J., Krattinger K. Genetic composition of Swiss and Austrian members of the apogamous *Dryopteris affinis* complex (*Dryopteridaceae*, *Polypodiopsida*) based on ISSR markers // *Plant Syst. Evol.* 2010. Vol. 286. P. 1–6.
38. Simon T., Vida G. Neue Angaben zur Verbreitung der *Dryopteris assimilis* S. Walker in Europa // *Annl. Univ. Scient. bpest. Rolando Eötvös, Sect. Biol.* 1966. Vol. 8. P. 275–284.
39. Walker S. Cytogenetic studies in the *Dryopteris spinulosa* complex I // *Watsonia.* 1955. Vol. 3. P. 193–209.
40. Walker S. Cytogenetic studies in the *Dryopteris spinulosa* complex II // *Amer. Journ. Bot.* 1961. Vol. 48. P. 607–614.
41. Walker S., Jermy A.C. *Dryopteris assimilis* S. Walker in Britain // *Brit. Fern. Gaz.* 1964. Vol. 9. P. 137–140.
42. Widén C.J. Kemotaxonomiska undersökningar av floroglucinderivatet i *Dryopteris assimilis* S. Walker och *D. dilatata* (Hoffm.) A. Gray i Finland. (Summary: Chemotaxonomic investigations of the phloroglucinol derivatives in *Dryopteris assimilis* S. Walker and *D. dilatata* (Hoffm.) A. Gray in Finland.) // *Farm. Notisblad.* 1967. Vol. 76. P. 185–216.
43. Williams J.G.K. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers // *Nucleic Acids Res.* 1990. Vol. 18, № 22. P. 6531–6535.
44. Yeh F.C. et al. POPGENE, the Microsoft Windows-based user-friendly software for population genetic analysis of co-dominant and dominant markers and quantitative traits. Canada: Dept. Renewable Resources, University of Alberta, Edmonton, 1999. 238 p.

References

1. Grushetskaya Z.E., Nikitinskaya T.V., Kubrak S.V., Dzyuban O.V., Kukhareva L.V., Poliksenova V.D., Titok V.V., Lemesh V.A., Parfenov V.I., Khotyleva L.V. [Using ISSR analysis to study intra- and interspecific genetic polymorphism of various taxa of land plants]. *Vestnik BGU. Ser. 2.* No. 3 (2013): pp. 50–56. (In Russ.).

2. Gureeva I.I., Feoktistov D.S., Kuznetsov A.A. [Application of molecular analysis in demographic studies of ferns]. *Sistematicheskie i floristicheskie issledovaniya Severnoj Evrazii* [Systematic and floristic studies of Northern Eurasia. Materials of the scientific conference]. Moscow, 2018, V. 1, pp. 172-175. (In Russ.).
3. Tsvelev N.N., ed. *Konspekt flory Vostočnoj Evropy* [Synopsis of the Eastern European flora.]. / St-Peterburg, KMK Publ., 2012, V. 1. 630 p. (In Russ.).
4. Kuznetsov V.M. [Nei's methods for analyzing genetic differences between populations]. *Problemy biologii produktivnykh životnykh*. No. 1 (2020): pp. 91-110. (In Russ.).
5. Kuznetsov V.M. [Information-entropy approach to the analysis of genetic diversity of populations (analytical review)]. *Agrarnaya nauka Evro-Severo-Vostoka*. V. 23, No. 2 (2022): pp. 159-173. (In Russ.).
6. Malyh S.Yu. [The genus *Dryopteris* Adans. in the European Russia]. *Vestnik Permskogo universiteta. Biologija*. Iss. 3 (2022): pp. 189-200. (In Russ.).
7. Svetlakova T.N., Boboshina I.V., Nechaeva Yu.S., Boronnikova S.V. [Genetic differentiation populations of *Populus tremula* L. in the Perm Region based on the polymorphism of ISSR markers]. *Agrarnyj vestnik Urala*. Iss. 3 (2012): pp. 11-13. (In Russ.).
8. Tsvelev N.N. [About *Dryopteris* Adans. (Dryopteridaceae) in East Europe]. *Novosti sistematiki vysšich rastenij*. V. 35 (2003): pp. 7-20. (In Russ.).
9. Shmakov A.I. *Opredelitel' paporotnikov Rossii* [Key for The Ferns of Russia]. Barnaul, ARTIKA Publ., 2009. 126 p. (In Russ.).
10. Yurtsev B.A. [Plant populations as an object of geobotany, floristics, and botanical geography]. *Botaničeskij žurnal*. V. 75, No. 5 (1987): pp. 581-588. (In Russ.).
11. Animasau D.A., Oyedeji S., Ingalhalli R.S., Krishnamurthy R. Polymorphism and genetic diversity assessment of some ornamental ferns by microsatellite (ISSR) markers. *J. Appl. Hortic*. V. 20, No. 3 (2018): pp. 237-241.
12. Bouchard J.R., Fernando F.F., Bailey S.W., Weber-Townsend J., Leopold D.J. Contrasting patterns of genetic variation in central and peripheral populations of *Dryopteris fragrans* (Fragrant wood fern) and implications for colonization dynamics and conservation. *International Journal of Plant Sciences*. V. 178, No. 8 (2017): pp. 607-617.
13. Bujnoch W. A contribution to the phylogeny of *Dryopteris remota* by genotyping of a fragment of the nuclear *PgiC* gene. *Fern. Gaz*. V. 20, part 2 (2015): pp. 79-89.
14. Camacho F.J., Liston A. Population structure and genetic diversity of *Botrychium pumicola* (Ophioglossaceae) based on inter-simple sequence repeats (ISSR). *Am. J. Bot*. V. 88 (2001): pp. 1065-1070.
15. Crabbe J.A., Jermy A.C., Walker S. Distribution of *Dryopteris assimilis* S. Walker in Britain. *Watsonia*. V. 8 (1970): pp. 3-15.
16. Döpp W., Gätzi W. Der Bastard zwischen tetraploider und diploider *Dryopteris dilatata*. *Ber. Schweiz. Bot. Ges*. V. 74 (1964): pp. 45-53.
17. de Groot G.A., During H.J., Ansell S.W., Scheider H., Bremer P., Wubs E.R.J., Maas E.R.J., Korpelainen H., Erkens R.H.J. Diverse spore rains and limited local exchange shape fern genetic diversity in a recently created habitat colonized by long-distance dispersal. *Ann. Bot*. V. 109 (2012.): pp. 965-978.
18. Dong Y.-H., Chen J.M., Robert G.W., Wang Q.F. Genetic variation in the endangered aquatic fern *Ceratopteris thalictroides* (Parkeriaceae) in China: implications from RAPD and ISSR data. *Bot. J. Linn. Soc*. V. 157 (2008): pp. 657-671.
19. Dong Y.-H., Gituru R.W., Wang Q.-F. Genetic variations and gene flow in the endangered aquatic fern *Ceratopteris pteridoides* in China, and conservation implications. *Ann. Bot. Fennici*. V. 47 (2010): pp. 34-44.
20. Ellstrand N.C., Elam D.R. Population genetic consequences of small population size: implications for plant conservation. *Annu. Rev. Ecol. Syst*. V. 24 (1993): pp. 217-242.
21. Excoffier L., Smouse P.E., Quattro J.M. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*. V. 131, No. 2 (1992): pp. 479-491.
22. Fraser-Jenkins C.R., Jermy A.C. Nomenclatural notes on *Dryopteris*: 2. *Fern Gaz*. V. 11, No. 5 (1977): pp. 338-340.
23. Holsinger K.E., Weir B.S. Genetics in geographically structured populations: defining, estimating and interpreting F_{ST} . *Nat. Rev. Genet*. V. 10 (2009): pp. 639-650.
24. Kimura M., Crow J. F. The number of alleles that can be maintained in a finite population. *Genetics*. V. 49, No. 2 (1964): pp. 725-738.
25. Leimu R., Mutikainen P., Koricheva J., Fischer M. How general are positive relationships between plant population size, fitness and genetic variation? *J. Ecol*. V. 94 (2006): pp. 942-952.
26. Lewontin R.C. The apportionment of human diversity. *Ev. Biol*. V. 6 (1972): pp. 381-398.
27. Manton I. *Problems of Cytology and Evolution in the Pteridophyta*. Cambridge, Cambridge University Press Publ., 1950. 316 p.
28. Nannfeldt J.A. *Dryopteris dilatata* och *Dr. assimilis* i Sverige. *Bot. Not*. V. 119 (1966): pp. 136-152.

29. Nei M. Genetic distance between populations. *Amer. Naturalist*. V. 106 (1972): pp. 283-292.
30. Nei M. Molecular population genetics and evolution. Amsterdam, Oxford, North-Holland Publishing Company, 1975. 288 p.
31. Nei M. Molecular Evolutionary Genetics. New York, Columbia University Press, 1987. 615 p.
32. Nei M., Li W-H. Mathematical model for studying genetic variation in terms restriction endonucleases. *PNAS, Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. V. 76 (1979): pp 5269-5273.
33. Peakall R. GenAEx6: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Mol. Ecol. Not.* V. 6, No. 1 (2005): pp. 288-295.
34. Perrie L.R., Ohlsen D.J., Shepherd L.D., Grrreff M., Brownsey P.J., Bayly M.J. Tasmanian and Victorian populations of the fern *Asplenium hookerianum* result from independent dispersal from New Zealand. *Aust. Syst. Bot.* V. 23, No. 6 (2010): pp. 387-392.
35. Rogers S.O., Bendich A.J. Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues. *Plant Mol. Biol.* V. 5, No. 2 (1985): pp. 69-76.
36. Sessa E.B., Zimmer E.A., Givnish T.J. Unraveling reticulate evolution in North American *Dryopteris* (*Dryopteridaceae*). *BMC Evol. Biol.* V. 12 (2012): pp. 104-127.
37. Schneller J.J., Krattinger K. Genetic composition of Swiss and Austrian members of the apogamous *Dryopteris affinis* complex (*Dryopteridaceae*, *Polypodiopsida*) based on ISSR markers. *Plant Syst. Evol.* V. 286 (2010): pp. 1-6.
38. Simon T., Vida G. Neue Angaben zur Verbreitung der *Dryopteris assimilis* S. Walker in Europa. *Annls Univ. Scient. bpest. Rolando Eötvös, Sect. Biol.* V. 8 (1966): pp. 275-284.
39. Walker S. Cytogenetic studies in the *Dryopteris spinulosa* complex I. *Watsonia*. V. 3 (1955): pp. 193-209.
40. Walker S. Cytogenetic studies in the *Dryopteris spinulosa* complex II. *Amer. Journ. Bot.* V. 48 (1961): pp. 607-614.
41. Walker S., Jermy A.C. *Dryopteris assimilis* S. Walker in Britain. *Brit. Fern. Gaz.* V. 9 (1964): pp. 137-140.
42. Widén C.J. Kemotaxonomiska undersökningar av floriglucinosiderivatet i *Dryopteris assimilis* S. Walker och *D. dilatata* (Hoffm.) A. Gray i Finland. (Summary: Chemotaxonomic investigations of the phloroglucinol derivatives in *Dryopteris assimilis* S. Walker and *D. dilatata* (Hoffm.) A. Gray in Finland.). *Farm. Notisblad.* V. 76 (1967): pp. 185-216.
43. Williams J.G.K. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res.* V. 18, No. 22 (1990): pp. 6531-6535.
44. Yeh F.C., Young R.C., Mao J., Ye Z., Boyle T.J. POPGENE, the Microsoft Windows-based user-friendly software for population genetic analysis of co-dominant and dominant markers and quantitative traits. Canada, Dept. Renewable Resources, University of Alberta, Edmonton, 1999. 238 p.

Статья поступила в редакцию 06.09.2023; одобрена после рецензирования 02.10.2023; принята к публикации 02.10.2023.

The article was submitted 06.09.2023; approved after reviewing 02.10.2023; accepted for publication 02.10.2023.

Информация об авторе

С. Ю. Малых – учитель биологии.

Information about the author

S. Yu. Malyh – biology teacher.

ИММУНОЛОГИЯ

Научная статья

УДК 571.27

doi: 10.17072/1994-9952-2023-3-274-279

Иммунобиологическая активность инденопирролов и инденопиридазинов

Оксана Николаевна Гейн¹✉, Сергей Владимирович Гейн²,
Екатерина Геннадьевна Чижова³, Наталья Владимировна Носова⁴

^{1,4} Пермская государственная фармацевтическая академия, Пермь, Россия

^{2,3} Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения РАН, Пермь, Россия

✉ heinon77@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1327-6685>

² gein@iegm.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0799-3397>

³ dama_74.ru@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0007-1977-6609>

⁴ natalia.v.nosova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6380-2543>

Аннотация. Наличие высокоэффективных лекарственных препаратов с минимальными побочными эффектами является необходимым в медицинской практике. В связи с этим активно ведется поиск фармакологически активных веществ растительного и химического происхождения. Перспективными в плане поиска биологически активных соединений являются производные пиррола и пиридазина – инденопирролы и инденопиридазины. Оценка влияния данных соединений на функциональную активность иммунной системы актуальна, поскольку иммунная система играет одну из ключевых ролей в поддержании гомеостаза в организме. В качестве объектов исследования нами были взяты инденопирролы (1а-г) и инденопиридазины (2а-г), отличающиеся наличием различных заместителей в структуре молекулы. Для оценки влияния исследуемых соединений на фагоцитарную активность лейкоцитов периферической крови крыс в системе *in vivo* исследуемые вещества вводили животным внутрибрюшинно в 2%-ной крахмальной слизи в дозе 100 мг/кг. Из хвостовой вены забирали образцы крови. Определение фагоцитарной активности лейкоцитов проводили стандартным методом в модификации. Результаты учитывали микроскопически. Подсчитывали клеточность селезенки, количество антителообразующих клеток в селезенке оценивали методом локального гемолиза в геле агарозы по Jerne. Влияние исследуемых соединений на клеточный иммунитет оценивали с помощью реакции гиперчувствительности замедленного типа. Нами выявлено преимущественно стимулирующее влияние, прежде всего инденопирролов на фагоцитарную активность нейтрофилов и общий лейкоцитарный фагоцитоз. Инденопирролы снижали клеточность селезенки и уменьшали количество антителообразующих клеток. Инденопиридазины оказывали разнонаправленное влияние на антителогенез. Исследуемые соединения не изменяли выраженность реакции гиперчувствительности замедленного типа.

Ключевые слова: фагоцитоз, антителообразование, гиперчувствительность замедленного типа, инденопирролы, инденопиридазины

Для цитирования: Иммунобиологическая активность инденопирролов и инденопиридазинов / О. Н. Гейн, С. В. Гейн, Е. Г. Чижова, Н. В. Носова // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2023. Вып. 3. С. 274–279. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2023-3-274-279>.

Благодарности: исследования проведены в рамках государственного задания № АААА-А19-119112290007-7 Института экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН и при финансовой поддержке Пермского научно-образовательного центра «Рациональное недропользование», 2023 г.

IMMUNOLOGY

Original article

Immunobiological activity indenopyrroles and indenopyridazines

Oksana N. Gein¹✉, Sergey V. Gein², Ekaterina G. Chizhova³,
Natalia V. Nosova⁴

^{1,4} Perm State Pharmaceutical Academy of the Ministry of Health of the Russian Federation, Perm, Russia

^{2,3} Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms of the Ural Branch of the RAS, Perm, Russia

✉ heinon77@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1327-6685>

² gein@iegm.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0799-3397>

³ dama_74.ru@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0007-1977-6609>

⁴ natalia.v.nosova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6380-2543>

Abstract. The availability of highly effective drugs with minimal side effects is essential in medical practice. In this regard, the search for pharmacologically active substances of plant and chemical origin is being actively pursued. Promising in terms of the search for biologically active compounds are derivatives of pyrrole and pyridazine - indenopyrroles and indenopyridazines. Evaluation of the effect of these compounds on the functional activity of the immune system is relevant, since the immune system plays one of the key roles in maintaining homeostasis in the body. As objects of study, we took indenopyrroles (1a-d) and indenopyridazines (2a-d), which differ in the presence of various substituents in the molecular structure. To assess the effect of the test compounds on the phagocytic activity of rat peripheral blood leukocytes in the *in vivo* system, the test substances were administered to animals intraperitoneally in 2% starch mucus at a dose of 100 mg/kg. Blood samples were taken from the tail vein. Determination of the phagocytic activity of leukocytes was carried out by the standard method in modification. The results were taken into account microscopically. The cellularity of the spleen was counted, the number of antibody-forming cells in the spleen was assessed by local hemolysis in agarose gel according to Jerne. The effect of the studied compounds on cellular immunity was assessed using a delayed-type hypersensitivity reaction. We have revealed a predominantly stimulating effect, first of all, of indenopyrroles on the phagocytic activity of neutrophils and general leukocyte phagocytosis. Indenopyrroles decreased the cellularity of the spleen and reduced the number of antibody-forming cells. Indenopyridazines had a multidirectional effect on antibody genesis. The test compounds did not change the severity of the delayed-type hypersensitivity reaction.

Keywords: phagocytosis, antithelogenesis, delayed-type hypersensitivity, indenopyrroles, indenopyridazines

For citation: Gein O. N., Gein S. V., Chizhova E. G., Nosova N. V. [Immunobiological activity of indenopyrroles and indenopyridazines]. *Bulletin of the Perm University. Biology*. Iss. 3 (2023): pp. 274-279. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2022-4-274-279>.

Acknowledgments: The studies were carried out within the framework of the state order No. AAAA-A19-119112290007-7 of the Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences. The study was carried out with the financial support of the Perm Scientific and Educational Center "Rational Subsoil Use", 2023.

Введение

Наличие высокоэффективных лекарственных препаратов с минимальными побочными эффектами является необходимым в медицинской практике. В связи с этим, многие исследователи ведут поиск фармакологически активных веществ, обладающих низкой токсичностью. Среди соединений химического синтеза достаточно много веществ, проявляющих различные виды биологической активности. Не являются исключением пирролы [Li Petri et al., 2020] и их производные пиридазины [Saeed et al., 2012; Zhang-Xu He et al., 2021]. Среди веществ растительного и химического происхождения встречаются соединения, содержащие в своей структуре пиррольное кольцо. Эти соединения обладают различными видами фармакологической активности: антиканцерогенной, антибактериальной, противовирусной, а также могут проявлять антигистаминное и иммуносупрессивное действие [Li Petri et al., 2020; Seipp et al., 2021]. Ряд известных в медицине и широко применяемых лекарственных препаратов содержат в своей структуре пиррольное кольцо. К пирролосодержащим лекарственным препаратам относится нестероидное противовоспалительное средство кеторолак, гиполипидемический препарат аторвастатин, антисеротонинергическое средство ондансетрон и ряд других [Li Petri et al., 2020]. Соединения, в структуре которых присутствует пиридазин, также оказывают фармакологическое действие и проявляют противовоспалительное, противоопухолевое действие [Saeed et al., 2012; Abbas et al., 2016; Zhang-Xu He et al., 2021].

Инденопирролы и инденопиридазины являются соответственно производными пиррола и пиридазина, следовательно, могут обладать биологическими эффектами. Однако их биологическая активность изучена недостаточно. Оценка влияния данных соединений на функциональную активность иммунной системы является актуальной, поскольку иммунная система играет одну из ключевых ролей в поддержании гомеостаза в организме.

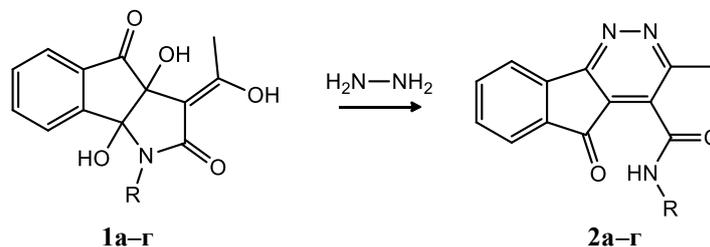
Цель работы – исследование влияния инденопирролов и инденопиридазинов на фагоцитарную активность лейкоцитов периферической крови, антителиобразование и выраженность реакции гиперчувствительности замедленного типа.

Материалы и методы исследований

В качестве объектов исследования были взяты восемь соединений: инденопирролы (1a-г) и инденопиридазины (2a-г), отличающиеся наличием различных заместителей в структуре молекулы (рисунок).

Эксперименты в системе *in vivo* проведены на белых нелинейных половозрелых крысах массой 180–230 г, а также на белых нелинейных мышах массой 21–26 г.

Все исследовательские работы с лабораторными животными выполняли в соответствии с общепринятыми этическими нормами обращения с животными, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для исследовательских и иных научных целей [Европейская конвенция ..., 1986].



Структурные формулы изучаемых соединений

R=C₆H₅ (**1a**, **2a**), R=2-ClC₆H₄ (**1б**, **2б**), R=2-CH₃C₆H₄ (**1в**, **2в**), R=H (**1г**, **2г**)

[Structural formulas of the studied compounds

R=C₆H₅ (**1a**, **2a**), R=2-ClC₆H₄ (**1б**, **2б**), R=2-CH₃C₆H₄ (**1в**, **2в**), R=H (**1г**, **2г**)]

Для оценки влияния исследуемых соединений на фагоцитарную активность лейкоцитов периферической крови крыс в системе *in vivo* исследуемые вещества вводили животным внутривенно в 2%-ной крахмальной слизи в дозе 100 мг/кг. Из хвостовой вены забирали образцы крови до введения исследуемых веществ (контроль), а также спустя 1 ч после их введения. Определение фагоцитарной активности лейкоцитов периферической крови проводили стандартным методом в модификации [Шилов, Владыкина, Атнагузина, 1998]. Результаты учитывали микроскопически. Рассчитывали показатели фагоцитарной активности лейкоцитов: процент фагоцитоза и фагоцитарный индекс дифференцированно для нейтрофильного, моноцитарного и общего лейкоцитарного фагоцитоза.

Для изучения влияния исследуемых веществ на антителообразование вещества суспендировали в 2%-ной крахмальной слизи и вводили мышам внутривенно в дозе 50 мг/кг. Контрольной группе животных вводили 2%-ную крахмальную слизь. Через 1 ч животных иммунизировали эритроцитами барана в концентрации 10⁸ внутривенно. На 5-е сутки животных выводили из эксперимента путем декапитации под эфирным наркозом и оценивали клеточность и количество антителообразующих клеток (АОК) в селезенке методом локального гемолиза в геле агарозы по Jerne [Jerne, Nordin, 1963].

Для оценки влияния исследуемых соединений на выраженность реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ), вещества суспендировали в 2%-ной крахмальной слизи и вводили мышам внутривенно в дозе 50 мг/кг. В качестве контроля вводили 2%-ную крахмальную слизь. Через 1 ч животных иммунизировали эритроцитами барана внутривенно в концентрации 10⁸ клеток. Разрешающую дозу эритроцитов барана (10⁸ клеток в 20 мкл физиологического раствора) вводили на 4-е сутки (опытная стопа). Параллельно с введением антигена в левую стопу (контроль) вводили физиологический раствор в объеме 20 мкл. Выраженность иммунного воспаления при ГЗТ оценивали через 24 ч после введения разрешающей дозы антигена путем изменения массы опытной и контрольной стопы. Результаты представляли в виде разности массы опытной и контрольной стопы и в виде индекса реакции, который рассчитывали по формуле

$$(P_o - P_k) / P_k * 100\%$$

где P_o – показатели массы опытной конечности, P_k – показатели массы контрольной конечности.

Статистическую обработку данных проводили методами вариационной статистики с помощью *t*-критерия Стьюдента. Эффект считали статистически значимым при *p* < 0.05 по сравнению с контролем. Результаты представляли в виде средней и ее стандартной ошибки (M±m).

Результаты и их обсуждение

При изучении влияния инденопирролов и инденопиридазинов на фагоцитарную активность лейкоцитов периферической крови выявлено изменение поглотительной активности лейкоцитов, прежде всего нейтрофилов (табл. 1). Так, инденопирролы **1a**, **1б**, **1г** увеличивали количество активных нейтрофилов и стимулировали их поглотительную активность. Соединение **1г**, помимо влияния на нейтрофильный фагоцитоз, увеличивало также количество фагоцитирующих моноцитов, но без изменения их поглотительной активности. Стимулирующее влияние на общий лейкоцитарный фагоцитоз оказывали все инденопирролы (**1a–г**). Среди инденопиридазинов стимулирующее влияние на поглотительную активность нейтрофилов оказывало лишь соединение **2г**. При введении соединения **2a** выявлено уменьшение количества активных моноцитов, захватывающих объекты фагоцитоза. Исследуемые вещества **2б** и **2в** не оказывали влияния на фагоцитарную активность нейтрофилов, моноцитов и общий лейкоцитарный фагоци-

тоз. Таким образом, нами было выявлено большее влияние инденопирролов на фагоцитарную активность лейкоцитов периферической крови по сравнению с их производными – инденопиридазинами.

Таблица 1

Влияние соединений инденопирролов (1а-г) и инденопиридазинов (2а-г) на фагоцитарную активность лейкоцитов

[The effect of indenopyrroles (1a-г) and indenopyridazines (2a-г) compounds on the phagocytic activity of leukocytes]

Группа	Нейтрофилы		Моноциты		Лейкоциты	
	фагоцитарный индекс	процент фагоцитоза	фагоцитарный индекс	процент фагоцитоза	фагоцитарный индекс	процент фагоцитоза
К (n=9)	1.31±0.09	29.20±4.01	1.11±0.06	31.30±3.79	1.29±0.09	29.24±3.67
1а (n=9)	1.59±0.07*	45.77±3.69*	1.18±0.09	31.67±6.92	1.57±0.07*	44.02±3.68*
К (n=6)	1.45±0.02	32.87±1.39	1.09±0.04	22.53±3.22	1.45±0.02	31.42±1.52
1б (n=6)	1.68±0.06*	44.91±4.06*	1.59±0.25	25.09±1.46	1.65±0.05*	42.48±4.19*
К (n=6)	1.26±0.05	24.15±3.64	1.07±0.07	21.49±1.19	1.17±0.05	19.45±3.05
1в (n=6)	1.33±0.03	32.39±2.80	1.19±0.12	20.22±3.62	1.32±0.04*	31.08±2.55*
К (n=7)	1.25±0.04	17.87±0.72	1.07±0.07	18.52±3.03	1.23±0.04	18.09±0.69
1г (n=7)	1.51±1.43*	36.28±3.11*	1.34±0.09	39.77±4.65*	1.49±0.08*	36.52±2.79*
К (n=8)	1.50±0.06	25.49±1.89	1.32±0.08	34.97±3.38	1.40±0.06	25.84±1.54
2а (n=8)	1.56±0.08	24.31±1.78	1.34±0.13	24.53±2.66*	1.54±0.07	24.16±1.69
К (n=6)	1.59±0.12	29.36±3.79	1.31±0.17	27.89±2.49	1.53±0.09	26.93±2.99
2б (n=6)	1.66±0.09	28.23±4.31	1.32±0.22	26.65±4.29	1.64±0.09	27.17±3.89
К (n=6)	1.53±0.05	37.53±2.82	1.35±0.12	27.63±6.51	1.54±0.10	38.95±5.02
2в (n=6)	1.69±0.11	46.12±3.77	1.44±0.24	20.48±5.65	1.67±0.11	43.94±3.27
К (n=6)	1.39±0.06	42.02±3.35	1.14±0.06	32.43±5.15	1.48±0.07	45.38±3.39
2г (n=6)	1.75±0.12*	48.37±3.23	1.47±0.21	18.55±3.99	1.74±0.11	46.52±3.03

Примечание. Результаты представлены в виде средней и ее стандартной ошибки (M ± m); К – контроль; n – количество животных в группе; * - p<0.05 по сравнению с контролем.

При оценке влияния изучаемых соединений 1а-г и 2а-г на гуморальный иммунный ответ, выявлено снижение количества ядросодержащих клеток (ЯСК) селезенки на фоне введения инденопирролов, а именно, соединений 1б и 1в (табл. 2). При введении соединения 1б клеточность селезенки снижалась более чем на 40%. Соединения 1а и 2а-г не вызывали статистически значимого изменения клеточности селезенки. Количество антителообразующих клеток селезенки изменялось при введении соединений 1в, 2а и 2в. Указанные соединения оказывали несколько разнонаправленное влияние на количество антителообразующих клеток: вещества 1в и 2в уменьшали количество антителообразующих клеток в селезенке, в то время как соединение 2а приводило к их увеличению.

Следовательно, на антителообразование оказывали влияние, прежде всего инденопирролы, и это влияние носило угнетающую направленность.

Таблица 2

Влияние инденопирролов (1а-г) и инденопиридазинов (2а-г) на антителогенез

[Effect of indenopyrroles (1a-г) and indenopyridazines (2a-г) on antibody genesis]

Соединение	ЯСК селезенки (x 10 ⁶)	Ig АОК на селезенку	Ig АОК на 10 ⁶ ЯСК
Контроль (n= 10)	385.44 ± 50.19	4.62 ± 0.08	2.07 ± 0.08
1а (n= 6)	350.40 ± 41.45	4.75 ± 0.09	2.23 ± 0.08
1б (n= 6)	185.92 ± 22.58*	4.43 ± 0.13	2.17 ± 0.13
1в (n= 6)	216.32 ± 31.53*	4.22 ± 0.09*	1.90 ± 0.09
1г (n= 6)	504.0 ± 39.87	4.84 ± 0.12	2.14 ± 0.12
2а (n= 6)	616.0 ± 101.87	4.96 ± 0.08*	2.19 ± 0.09
2б (n= 6)	438.40 ± 102.68	4.78 ± 0.27	2.17 ± 0.19
2в (n= 6)	226.80 ± 46.72	4.15 ± 0.09*	1.83 ± 0.14
2г (n= 6)	225.28 ± 42.21	4.54 ± 0.05	2.23 ± 0.04

Примечание. Результаты представлены в виде средней и ее стандартной ошибки (M ± m); n – количество животных в группе; * - p<0.05 по сравнению с контролем.

Влияние исследуемых соединений на клеточный иммунитет оценивали с помощью реакции гиперчувствительности замедленного типа. Как видно из данных табл. 3, исследуемые соединения не изменяли выраженность клеточного иммунитета в реакции ГЗТ.

Таблица 3

Влияние инденопирролов (1а–г) и инденопиридазинов (2а–г) на выраженность реакции ГЗТ
[The effect of indenopyrroles (1a–g) and indenopyridazines (2a–g) on the severity of the HRT reaction]

Соединение	Масса стопы	
	разность, г	индекс реакции, %
Контроль (n= 10)	26.10 ± 2.88	18.72 ± 2.04
1а (n= 6)	24.20 ± 2.52	15.86 ± 1.92
1б (n= 6)	17.40 ± 3.40	14.34 ± 2.79
1в (n= 6)	19.60 ± 5.45	14.52 ± 4.19
1г (n= 6)	20.25 ± 3.09	13.69 ± 2.69
2а (n= 6)	18.00 ± 2.77	12.23 ± 2.45
2б (n= 6)	24.60 ± 4.34	17.42 ± 3.04
2в (n= 6)	23.40 ± 8.34	18.31 ± 6.20
2г (n= 6)	20.60 ± 5.10	15.55 ± 3.69

Примечание. Результаты представлены в виде средней и ее стандартной ошибки (M ± m); n – количество животных в группе.

Полученные результаты, с одной стороны, говорят об отсутствии влияния исследуемых соединений на иммунное воспаление в реакции ГЗТ. Но с другой стороны, отсутствует и стимуляция, что имеет положительное значение при использовании у данных соединений иных биологических эффектов, поскольку вероятность развития аллергической реакции по типу ГЗТ будет минимальна.

Заключение

В нашем исследовании выявлено преимущественно стимулирующее влияние исследуемых соединений, прежде всего инденопирролов на фагоцитарную активность нейтрофилов и общий лейкоцитарный фагоцитоз. Инденопирролы снижали клеточность селезенки, уменьшали количество антителообразующих клеток в селезенке. Инденопиридазины оказывали разнонаправленное влияние на антителогенез. Как инденопирролы, так и инденопиридазины, не изменяли выраженность реакции гиперчувствительности замедленного типа. Предполагая возможные механизмы наблюдаемых эффектов, нельзя исключить, что стимулирующее влияние исследуемых соединений на поглотительную активность лейкоцитов реализуется через их взаимодействие с паттернраспознающими рецепторами, участвующими в фагоцитозе [Черешнев и др., 2011], или влиянием на каналы TRPM2 (транзитный рецепторный потенциалный катионный канал, подсемейство М, тип 2) и/или кальциевые каналы, которые широко представлены на фагоцитирующих клетках. Изменение их активности приводит к изменению поглотительной активности лейкоцитов [Hallett, 2023]. Влияние исследуемых соединений на антителообразование в селезенке, скорее всего, носит опосредованный характер и осуществляется при участии макрофагов, способных доставлять в селезенку циркулирующие в организме вещества.

В заключение необходимо отметить перспективность дальнейшего изучения биологических эффектов и механизмов их развития соединений ряда инденопирролов и их производных инденопиридазинов.

Список источников

1. Европейская конвенция по защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях. Страсбург, 1986.
2. Черешнев В.А. и др. Экспериментальные модели в патологии. Пермь, 2011. 267 с.
3. Шилов Ю.И., Владыкина В.П., Атнагузина А.Т. Некоторые методические подходы к оценке показателей общего и дифференцированного фагоцитоза лейкоцитов периферической крови. Характеристика различий у здоровых людей // Пермский медицинский журнал. 1998. Т. 15, № 2. С. 3–9.
4. Abbas S.H. et al. Synthesis, cytotoxic activity, and tubulin polymerization inhibitory activity of new pyrrol-2(3H)-ones and pyridazin-3(2H)-ones // Bioorganic Chemistry. 2016. Vol. 66. P. 46–62.
5. Hallett M.B. Localisation of Intracellular Signals and Responses during Phagocytosis // Int. J. Mol. Sci. 2023. Vol. 24. 2825.
6. Jerne N.K., Nordin A.A. Plaque formation in agar by single antibody-producing cells // Science. 1963. Vol. 140, № 3365. P. 405–415.
7. Li Petri G. et al. Bioactive pyrrole-based compounds with target selectivity // European Journal of Medicinal Chemistry. 2020. Vol. 208. 11278.

8. Saeed, M.M. et al. Synthesis and anti-inflammatory activity of novel pyridazine and pyridazinone derivatives as non-ulcerogenic agents // *Archives of Pharmacal Research*. 2012. Vol. 35, № 12. P. 2077–2092.
9. Seipp K., Geske L., Opatz T. Marine Pyrrole Alkaloids // *Mar. Drugs*. 2021. Vol. 19. 514.
10. Zhang-Xu He et al. Pyridazine as a privileged structure: An updated review on anticancer activity of pyridazine containing bioactive molecules // *Eur. J. Med. Chem*. 2021. Vol. 209. 112946.

References

1. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes. Strasbourg, 1986.
2. Chereshev V.A. et al. *Eksperimental'nye modeli v patologii* [Experimental models in pathology]. Perm, 2011. 267 p. (In Russ).
3. Shilov Yu.I., Vladykina V.P., Atmaguzina A.T. [Some methodological approaches to assessing the indicators of general and differentiated phagocytosis of peripheral blood leukocytes. Characteristics of differences in healthy people]. *Permskij medicinskij žurnal*. V. 15, No. 2 (1998): pp. 3-9. (In Russ).
4. Abbas S.H. et al. Synthesis, cytotoxic activity, and tubulin polymerization inhibitory activity of new pyrrol-2(3H)-ones and pyridazin-3(2H)-ones. *Bioorganic Chemistry*. V. 66 (2016): pp. 46-62.
5. Hallett M.B. Localisation of Intracellular Signals and Responses during Phagocytosis. *Int. J. Mol. Sci*. V. 24 (2023). 2825.
6. Jerne N.K., Nordin A.A. Plaque formation in agar by single antibody-producing cells. *Science*. V. 140, No. 3365 (1963): pp. 405-415.
7. Li Petri G. et al. Bioactive pyrrole-based compounds with target selectivity. *European Journal of Medicinal Chemistry*. V. 208 (2020). 11278.
8. Saeed M.M. et al. Synthesis and anti-inflammatory activity of novel pyridazine and pyridazinone derivatives as non-ulcerogenic agents. *Archives of Pharmacal Research*. V. 35, No. 12 (2012): pp. 2077-2092.
9. Seipp K., Geske L., Opatz T. Marine Pyrrole Alkaloids. *Mar. Drugs*. V. 19 (2021): 514.
10. Zhang-Xu He et al. Pyridazine as a privileged structure: An updated review on anticancer activity of pyridazine containing bioactive molecules. *Eur. J. Med. Chem*. V. 209 (2021). 112946.

Статья поступила в редакцию 02.09.2023; одобрена после рецензирования 08.09.2023; принята к публикации 02.10.2023.

The article was submitted 02.09.2023; approved after reviewing 08.09.2023; accepted for publication 02.10.2023.

Информация об авторах

О. Н. Гейн – канд. биол. наук, доцент кафедры фармакологии;
 С. В. Гейн – д-р мед. наук, директор;
 Е. Г. Чижова – инженер лаборатории биохимии развития микроорганизмов;
 Н. В. Носова – канд. хим. наук, доцент кафедры общей и органической химии.

Information about the authors

O. N. Gein – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor of the Department of Pharmacology;
 S. V. Gein – Doctor of Medical Sciences, Director;
 E. G. Chizhova – Engineer of the Laboratory of Biochemistry of the Development of Microorganisms;
 N. V. Nosova – Candidate of Chemical Sciences, Associate Professor of the Department of General and Organic Chemistry.

Вклад авторов:

Гейн О. Н. – концепция исследования, предоставление исходных данных, статистическая обработка полученных результатов, написание текста.
 Гейн С. В. – научное руководство, концепция исследования, доработка текста.
 Чижова Е. Г. – предоставление исходных данных.
 Носова Н. В. – синтез изучаемых соединений.

Contribution of the authors:

Gein O. N. - providing initial data, the concept of the study, statistical processing of the results, writing the text.
 Gein S. V. – scientific guidance, concept of research, revision of the text.
 Chizhova E. G. – provision of initial data.
 Nosova N. V. – synthesis of the studied compounds.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflicts of interests.

ИММУНОЛОГИЯ

Научная статья

УДК 571.27

doi: 10.17072/1994-9952-2023-3-280-286

Цитологические особенности мононуклеарных лейкоцитов, культивированных в присутствии полиаминов

Илья Андреевич Морозов^{1✉}, Анатолий Петрович Годовалов²

¹✉ Пермский государственный медицинский университет им. акад. Е.А. Вагнера, Пермь, Россия, doc.morozov@hotmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-4233-3711>

² Центральная научно-исследовательская лаборатория Пермского государственного медицинского университета им. акад. Е.А. Вагнера, Пермь, Россия, agodovalov@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-5112-2003>

Аннотация. Рассмотрены количественные и качественные изменения в клеточном составе после инкубации с путресцином и кадаверином. Цель исследования – изучение изменений цитологических характеристик лейкоцитов после их инкубации с кадаверином и путресцином. Оценивали количество, типы клеток, размеры, наличие вакуолей и включений у лейкоцитов периферической крови (n = 15) после их предынкубации с кадаверином (5 и 25 ммоль/л) и путресцином (5 и 25 ммоль/л) в течение 72 ч при 37°C. Показано, что по мере увеличения концентрации путресцина общее количество лейкоцитов снижается, при этом кадаверин дозозависимо повышал этот показатель. В то же время после воздействия путресцина увеличилась доля больших по размеру лимфоцитов и количество вакуолей в цитоплазме. Кадаверин в концентрации 25 ммоль/л значимо снижал количество клеток с признаками цитоллиза. Таким образом, в ходе проведенных исследований установлено, что кадаверин и путресцин, продуцируемые преимущественно прокариотическими клетками, оказывают влияние как на численность, так и на цитологические характеристики иммунокомпетентных клеток.

Ключевые слова: полиамины, кадаверин, путресцин, микробная агрессия, лейкоциты

Для цитирования: Морозов И. А., Годовалов А. П. Цитологические особенности мононуклеарных лейкоцитов, культивированных в присутствии полиаминов // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2023. Вып. 3. С. 280–286. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2023-3-280-286>.

IMMUNOLOGY

Original article

Cytological features of mononuclear leukocytes cultured in the presence of polyamines

Ilya A. Morozov^{1✉}, Anatoly P. Godovalov²

¹ ✉ E.A. Vagner Perm State Medical University, Perm, Russia, doc.morozov@hotmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-4233-3711>

² Central Research Laboratory of the E.A. Vagner Perm State Medical University, Perm, Russia, agodovalov@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-5112-2003>

Abstract. Quantitative and qualitative changes in the cellular composition after incubation with putrescine and cadaverine are considered. The aim of the study was to study changes in the cytological characteristics of leukocytes after their incubation with cadaverine and putrescine. The number, cell types, sizes, presence of vacuoles and inclusions in peripheral blood leukocytes (n=15) were evaluated after their preincubation with cadaverine (5 and 25 mmol/L) and putrescine (5 and 25 mmol/L) for 72 hours at 37°C. It has been shown that as the concentration of putrescine increases, the total number of leukocytes decreases, while cadaverine dose-dependently increased this indicator. At the same time, after exposure to putrescine, the proportion of large lymphocytes and the number of vacuoles in the cytoplasm increased. Cadaverine at a concentration of 25 mmol/L significantly reduced the number of cells with signs of cytolysis. Thus, in the course of the conducted studies, it was found that cadaverine and putrescine, produced mainly by prokaryotic cells, affect both the number and cytological characteristics of immunocompetent cells.

Keywords: polyamines, cadaverine, putrescine, microbial aggression, leukocytes

For citation: Morozov I. A., Godovalov A. P. [Cytological features of mononuclear leukocytes cultured in the presence of polyamines]. *Bulletin of the Perm University. Biology*. Iss. 3 (2023): pp. 280-286. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2023-3-280-286>.

Введение

Разносторонние биологические эффекты действия полиаминов на функции и жизнедеятельность как прокариотических, так и эукариотических клеток [Годовалов, Карпунина, 2022] обуславливают нарастающий интерес к их изучению. Известно, что полиамины регулируют синтез белка бактериями, их устойчивость к антимикробным препаратам, формирование биопленок, *quorum sensing* и т.д. [Бухарин, 2018, Нестерова, Негорелова, Ткаченко, 2019]. Показано, что применение путресцина *per os* приводит к увеличению активности лизоцима и щелочной фосфатазы, уровня иммуноглобулинов М, а также снижает уровень продукции фактора некроза опухоли- α в кишечном содержимом [Liu et al., 2019]. Кроме того, установлено, что полиамины регулируют дифференцировку макрофагов в М2 и оказывают супрессию толерогенных дендритных клеток [Carriche et al., 2021]. В ряде других экспериментов описано ингибирование путресцином и кадаверином продукции $IFN\gamma$, а также увеличение продукции IL-4 митоген-активированными клетками [Годовалов и др., 2019]. Продемонстрировано участие полиаминов в регуляции активации и дифференцировки Т- и В-лимфоцитов [Hesterberg, Cleveland, Epling-Burnette, 2018]. Так, дефицит орнитиндекарбоксилазы, фермента, необходимого для синтеза полиаминов, приводит к нарушению дифференцировки $CD4^+$ Т-хелперов из-за снижения концентрации субстрата для дезоксигипузинсинтазы [Puleston et al., 2021]. Ранее было показано, что в очаге воспаления, там, где наблюдается активное размножение условно патогенных микроорганизмов, нарастает уровень полиаминов [Shah et al., 2011; Морозов, Карпунина, Годовалов, 2018; Годовалов, Карпунина, 2022]. Однако изменение активности клеток иммунной системы в таких условиях не изучено. В связи с этим наибольшее внимание исследователей привлекают полиамины, синтезируемые условно патогенными микроорганизмами, как, например, путресцин и кадаверин. Эти полиамины относятся к классу низкомолекулярных алифатических поликатионных аминов, состоящих из насыщенных углеводородных цепей различной длины с аминогруппами [Hesterberg, Cleveland, Epling-Burnette, 2018]. Известно, что полиамины могут активно проникать через цитоплазматическую мембрану клеток при участии специфического переносчика [Mei et al., 2007; Kurihara, 2022] и (или) за счет пассивной диффузии [Силачев, Плотников, Горюнов, 2018]. После проникновения полиаминов в клетку наблюдается процесс их связывания с полианионными соединениями (белки, нуклеиновые кислоты, фосфолипиды, глюкозаминогликаны), а более 90% всех полиаминов находятся в связанном с ДНК и РНК состоянии [Mei et al., 2007; Hesterberg, Cleveland, Epling-Burnette, 2018]. Внутриклеточные функции полиаминов многообразны: стабилизация плазматических мембран, суперсперилизация структуры ДНК, индуцирование транскрипции, связывание с рибосомами, активация ДНК-лигаз, эндонуклеаз, протеинкиназ. Связавшись с нуклеиновыми кислотами, полиамины влияют на структуру хроматина, регулируя тем самым экспрессию генов [Shah, Swiatlo, 2008]. Однако исследований морфологических особенностей эукариотических клеток относительно мало.

Цель исследования – оценка изменений цитологических характеристик лейкоцитов после их инкубации с кадаверином и путресцином.

Материалы и методы

У практически здоровых доноров брали пробы венозной крови с последующим выделением моноклеарной фракции лейкоцитов путем центрифугирования на градиенте плотности фикола-верографина (1.077 г/см^3). Рабочее количество лейкоцитов – 200 моноклеарных клеток на 1 мкл. В стерильные круглодонные планшеты внесли полиамины в концентрациях 5 и 25 ммоль/л. Использовали путресцина гидрохлорид, кадаверина гидрохлорид. В контрольные лунки вносили равный объем среды. Использовали полную культуральную среду, включающую RPMI-1640, 10% эмбриональной телячьей сыворотки, 20 мМ *HEPES*, 0.05 мМ 2-меркаптоэтанол, 50 мкг/мл гентамицина и 2 мМ *L*-глутамин. Культивирование осуществляли в следующих условиях: влажная атмосфера с 5%-ным CO_2 при $37^\circ C$ в течение 72 ч. После этого готовили микропрепараты из клеточного осадка и фиксировали их по методу Май-Грюнвальда с последующей окраской по методу Романовского – Гимза. В препаратах учитывали типы клеток, определяли их размеры, а также наличие вакуолей и включений.

Статистическую обработку результатов выполняли с помощью парного варианта *t*-критерия Стьюдента. За пороговый уровень значимости принимали величину $p < 0.05$.

Результаты

Установлено, что по мере увеличения концентрации путресцина в пробах, общее количество моноклеарных лейкоцитов не увеличивается относительно аналогичного показателя в контрольных пробах, что, возможно, обусловлено ингибированием пролиферативной активности этих клеток путресцином. При этом существенных различий между пробами с 5 и 25 ммоль/л не выявлено (рис. 1). В случае культивирования клеток в присутствии кадаверина выявлено увеличение численности моноцитов. При этом в пробах с 5 ммоль/л наблюдается незначительное увеличение их числа, а с увеличением концентрации

кадаверина – статистически значимое отличие от контрольных проб (рис. 1). Кроме того, численность клеток в пробах с 5 и 25 ммоль/л кадаверина статистически значимо различалась.

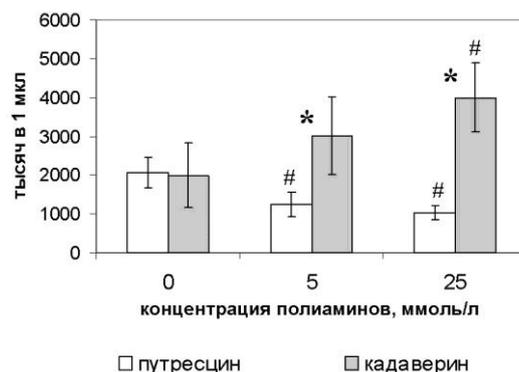


Рис. 1. Численность мононуклеарных клеток в пробах с полиаминами к 72 ч культивирования.

* – $p < 0.05$ при сравнении кадаверина и путресцина; # – $p < 0.05$ при сравнении с пробами без соответствующего полиамина. Результаты представлены в виде среднего арифметического и его ошибки

[The number of mononuclear cells in samples with polyamines by 72 hours of cultivation.

* – $p < 0.05$ when comparing cadaverine and putrescine; # – $p < 0.05$ when comparing with samples without the corresponding polyamine. The results are presented in the form of an arithmetic mean and its error]

С помощью окрашивания трипановым синим в пробах с разными концентрациями путресцина не выявлено снижения числа жизнеспособных клеток, а также увеличения числа мертвых клеток. При этом в микропрепаратах наблюдается увеличение относительного числа клеток с признаками цитоллиза согласно повышению уровня путресцина. При концентрации этого поликаатиона 5 ммоль/л – $4.6 \pm 0.6\%$, а при 25 – $5.8 \pm 0.6\%$ (в контрольных пробах – $2.6 \pm 0.7\%$, $p = 0.051$ к пробам с 5 ммоль/л и $p = 0.032$ к пробам с 25 ммоль/л путресцина).

К 72 ч культивирования клеток с путресцином установлено, что с увеличением концентрации этого поликаатиона увеличивается доля моноцитарных клеток, а численность лимфоцитов снижается относительно аналогичных показателей в образцах без полиаминов (рис. 2).



Рис. 2. Лимфоцитарно-моноцитарное соотношение при культивировании клеток в присутствии путресцина.

* – $p < 0.05$ при сравнении кадаверина и путресцина; # – $p < 0.05$ при сравнении с пробами без соответствующего полиамина. Результаты представлены в виде среднего арифметического и его ошибки

[Lymphocyte-monocyte ratio in cell culture in the presence of putrescine.

* – $p < 0.05$ when comparing cadaverine and putrescine; # – $p < 0.05$ when comparing with samples without the corresponding polyamine. The results are presented in the form of an arithmetic mean and its error]

При увеличении уровня путресцина в пробах возрастало количество больших по размеру лимфоцитов до $22.1 \pm 2.4\%$ при 5 ммоль/л и $34.5 \pm 2.9\%$ при 25 ммоль/л (в контроле – $5.3 \pm 1.7\%$, $p = 0.001$ к пробам с 5 и 25 ммоль/л). Отмечено дозозависимое увеличение клеток, содержащих вакуоли: $20.2 \pm 2.3\%$ при 5 ммоль/л; $33.4 \pm 1.4\%$ при 25 ммоль/л (в контроле – $10.9 \pm 1.5\%$; $p = 0.001$ к пробам с 5 и 25 ммоль/л). Однако число клеток, содержащих прочие включения, оставалось наименьшим при 25 ммоль/л ($18.9 \pm 1.2\%$) и наибольшим – в контрольных пробах ($41.6 \pm 7.9\%$; $p = 0,049$).

При подсчете клеток с трипановым синим в пробах с разными концентрациями кадаверина установлено увеличение числа жизнеспособных клеток при повышении концентрации этого поликатиона. В микропрепаратах, полученных из культуральной взвеси после 72 ч инкубации в присутствии 25 ммоль/л кадаверина число клеток с признаками цитолиза существенно меньше, чем таковое в контрольных пробах (1.3 ± 0.2 и $3.7 \pm 0.6\%$ соответственно; $p = 0.02$). Изменения лимфоцитарно-моноцитарного соотношения в пробах мононуклеарных лейкоцитов, культивированных в присутствии разных концентраций кадаверина, представлены на рис. 3.

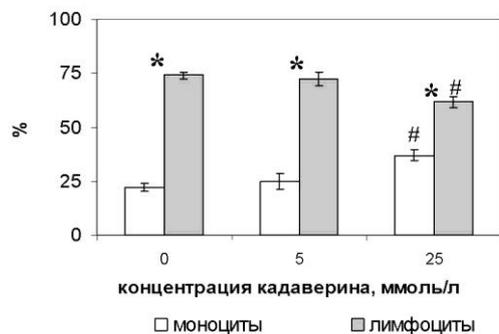


Рис. 3. Лимфоцитарно-моноцитарное соотношение при культивировании клеток в присутствии кадаверина.

* – $p < 0.05$ при сравнении между кадаверином и путресцином; # – $p < 0.05$ при сравнении с пробами без соответствующего полиамина. Результаты представлены в виде среднего арифметического и его ошибки

[Lymphocyte-monocyte ratio in cell culture in the presence of cadaverine.

* – $p < 0.05$ when compared between cadaverine and putrescine; # – $p < 0.05$ when compared with samples without the corresponding polyamine. The results are presented in the form of an arithmetic mean and its error]

Отмечено значительное уменьшение количества малых лимфоцитов (до $9.0 \pm 0.8\%$) и повышение лимфоцитов большого размера (до $20.9 \pm 1.0\%$) при уровне кадаверина 25 ммоль/л (в контрольных пробах – $22.3 \pm 1.0\%$, $p = 0.001$ и $9.6 \pm 0.9\%$, $p = 0.001$ соответственно). Кроме того, в пробах с 25 ммоль/л кадаверина выявлено значимое увеличение доли клеток, содержащих вакуоли и включения – $26.9 \pm 3.0\%$ (в контроле – $9.5 \pm 1.6\%$, $p = 0.001$).

Обсуждение

Известно, что в метаболизме моноцитарно-макрофагальных клеток существенное значение играют полиамины, однако большинство исследователей сконцентрированы на изучении влияния спермина и спермидина, являющихся продуктами эукариотических клеток. Кроме этого, есть сведения, что концентрация полиаминов увеличивается при воспалении, особенно в случае наличия полиамин-синтезирующих видов бактерий, среди которых следует выделить представителей семейства *Enterobacteriaceae*, рода *Neisseria* и других [Tabor, Tabor, 1985; Lavizzari et al., 2010]. Однако эти виды микроорганизмов синтезируют другие поликатионы – кадаверин и путресцин, о влиянии которых на иммунокомпетентные клетки относительно мало сведений.

Путресцин оказывает большее влияние на моноциты, чем кадаверин, поскольку может включаться в метаболизм этих клеток с последующим образованием спермина и спермидина [Kurihara, 2022]. Известно, что рост числа клеток с вакуолями среди моноцитов может указывать на их активацию [Сидельников, Начева, 2016; Бархина, Гуцин, Алексеев, 2018; Kurihara, 2022], которая, как показано в настоящем исследовании длится дольше, поскольку число клеток с включениями существенно не изменяется. Кроме того, в проведенных ранее исследованиях установлено, что путресцин оказывает преимущественное влияние на фагоцитарную активность нейтрофилов, но не моноцитов [Годовалов и др., 2019].

Зарегистрированное повышение числа жизнеспособных клеток при их инкубации с кадаверином обусловлено протективным действием этого полиамина при наличии факторов, инициирующих цитолиз клеток, что можно наблюдать в искусственных условиях. Увеличение числа клеток с включениями можно рассматривать как отражение увеличения поглотительной активности моноцитов, что подтверждается проведенными нами ранее исследованиями [Морозов, Карпунина, Годовалов, 2018; Годовалов и др., 2019].

Наблюдаемая в настоящем исследовании вакуолизация цитоплазмы, вероятно, не является признаком развивающейся клеточной смерти, а относится к побочным эффектам действия полиаминов [Shubin, Demiduk, Komissarov, 2016]. От эндоплазматического ретикулума отщепляются вакуоли, что повышает

емкость этого органоида, в том числе для белка. Более того вакуоли аккумулируя бактериальные токсины снижают их патогенный эффект (например, токсины *E. coli* Stx2 и SubAB, токсин *M. pneumoniae* CARDS и некоторые другие [Shubin, Demidyuk, Komissarov, 2016]). Можно предположить, что такая ситуация будет способствовать внутриклеточной персистенции бактерий-продуцентов полиаминов.

Заключение

Таким образом, в ходе проведенных исследований установлено, что кадаверин и путресцин, продуцируемые преимущественно прокариотическими клетками, оказывают влияние как на численность, так и на цитологические характеристики иммунокомпетентных клеток.

Список источников

1. Бархина Т.Г., Гушин М.Ю., Алексеев Ю.В. Ультраструктурный анализ различных популяций клеток крови при аллергопатологии и воздействии светокислородного и фотодинамического эффектов // Вестник новых медицинских технологий. 2018. Т. 12, № 4. С. 218–224.
2. Бухарин О.В. Адаптивные стратегии взаимодействия возбудителя и хозяина при инфекции // Вестник Российской академии наук. 2018. Т. 88, № 7. С. 637–643.
3. Годовалов А.П., Карпунина Т.И. Влияние полиаминов бактериального происхождения на продукцию ключевых цитокинов в культуре мононуклеарных лейкоцитов человека // Медицинская иммунология. 2022. Т. 24, № 2. С. 257–262.
4. Годовалов А.П. и др. Полиамины как рецептор-независимые факторы агрессии условно-патогенных микроорганизмов // Иммунопатология, аллергология, инфектология. 2019. № 3. С. 91–94.
5. Годовалов А.П. и др. Люминолзависимая хемилюминесценция как средство выявления маркеров окислительного стресса // Высокие технологии, определяющие качество жизни: материалы II Междунар. науч. конф. Пермь, 2018. С. 201–203.
6. Морозов И.А., Карпунина Т.И., Годовалов А.П. Кадаверин как регулятор активности про- и эукариотических клеток // Аллергология и иммунология. 2018. Т. 19, № 3. С. 149–150.
7. Нестерова Л.Ю., Негорелова Е.В., Ткаченко А.Г. Биогенные полиамины как модуляторы активности Quorum sensing системы и биопленкообразования *Vibrio harveyi* // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2019. Вып. 3. С. 300–308.
8. Сидельникова А.А., Начева Л.В. Морфологические изменения периферической крови в динамическом наблюдении при остром описторхозе у экспериментальных животных // Современные проблемы науки и образования. 2016. № 6. С. 504–512.
9. Силачев Д.Н., Плотников Е.Ю., Горюнов К.В. Роль полиаминов в жизнедеятельности клеток репродуктивной системы // Цитология. 2018. Т. 60, № 3. С. 164–172.
10. Carriche G.M. et al. Regulating T-cell differentiation through the polyamine spermidine // The journal of allergy and clinical immunology. 2021. Vol. 147, № 1. P. 335–348.
11. Equi A.M. et al. Oxidation of putrescine and cadaverine derivatives by diamine oxidases // Tetrahedron. 1991. Vol. 47, № 3. P. 507–518.
12. Fujiswa S., Kadoma Y. Kinetic evaluation of polyamines as radical scavengers // Anticancer Research. 2005. Vol. 25, № 2A. P. 965–970.
13. Hesterberg R.S., Cleveland J.L., Epling-Burnette P.K. Role of polyamines in immune cell functions // Medical sciences (Basel, Switzerland). 2018. Vol. 6, № 1. 22. doi: 10.3390/medsci6010022.
14. Kurihara S. Polyamine metabolism and transport in gut microbes // Bioscience, biotechnology, and biochemistry. 2022. Vol. 86, № 8. P. 957–966.
15. Lavizzari T. et al. Histamine, cadaverine, and putrescine produced in vitro by enterobacteriaceae and pseudomonadaceae isolated from spinach // Journal of food protection. 2010. Vol. 73, № 2. P. 385–389.
16. Liu G. et al. Putrescine enhances intestinal immune function and regulates intestinal bacteria in weaning piglets // Food Function. 2019. Vol. 10. P. 4134–4142.
17. Mei Y. et al. A sequential injection analysis chemiluminescent plant tissue-based biosensor system for the determination of diamine // Biosens. Bioelectron. 2007. Vol. 22, № 6. P. 871–876.
18. Puleston D.J. et al. Polyamine metabolism is a central determinant of helper T cell lineage fidelity // Cell. 2021. Vol. 184. P. 4186–4202.
19. Shah P. et al. Polyamine biosynthesis and transport mechanisms are crucial for fitness and pathogenesis of *Streptococcus pneumoniae* // Microbiology. 2011. Vol. 57, № 2. P. 504–515.
20. Shah P., Swiatlo E. A multifaceted role for polyamines in bacterial pathogens // Molecular microbiology. 2008. Vol. 68, № 1. p. 4–16.
21. Shubin A.V., Demidyuk I.V., Komissarov A.A. Cytoplasmic vacuolization in cell death and survival // Oncotarget. 2016. Vol. 7, № 34. p. 55863–55889.

22. Tabor C.W., Tabor H. Polyamines in microorganisms // *Microbiological Reviews*. 1985. Vol. 49, № 1. P. 81–99.

References

1. Barkhina T.G., Gushchin M.Yu., Alekseev Yu.V. [Ultrastructural analysis of various populations of blood cells in allergopathology and exposure to light-oxygen and photodynamic effects]. *Vestnik novych medicinskih tehnologij*. V. 12, No. 4 (2018): pp. 218-224. (In Russ.).
2. Bukharin O.V. [Adaptive strategies of interaction of pathogen and host in infection]. *Vestnik Rossijskoj akademii nauk*. V. 88, No. 7 (2018): pp. 637-643. (In Russ.).
3. Godovalov A.P., Karpunina T.I. [Influence of polyamines of bacterial origin on the production of key cytokines in the culture of human mononuclear leukocytes]. *Medicinskaja immunologija*. V. 24, No. 2 (2022): pp. 257-262. (In Russ.).
4. Godovalov A.P., Karpunina T.I., Nesterova L.Yu., Morozov I.A. [Polyamines as receptor-independent factors of aggression of conditionally pathogenic microorganisms]. *Immunopatologija, allergologija, infektologija*. No. 3 (2019): pp. 91-94. (In Russ.).
5. Godovalov A.P., Shilov Yu.I., Vavilov N.V., Karpunina T.I. [Luminol-dependent chemiluminescence as a means of detecting markers of oxidative stress]. *Vysokie tehnologii, opredelajuščie kačestvo žizni* [High technologies that determine the quality of life. Materials of the II International Scientific Conference]. Perm, 2018, pp. 201-203. (In Russ.).
6. Morozov I.A., Karpunina T.I., Godovalov A.P. [Kadaverin as a regulator of pro- and eukaryotic cell activity]. *Allergologija i immunologija*. V. 19, No. 3 (2018): pp. 149-150. (In Russ.).
7. Nesterova L.Yu., Negorelova E.V., Tkachenko A.G. [Biogenic polyamines as modulators of Quorum sensing activity and biofilm formation of *Vibrio harveyi*]. *Vestnik Permskogo universiteta. Biologija*. Iss. 3 (2019): pp. 300-308. (In Russ.). DOI: 10.17072/1994-9952-2019-3-300-308.
8. Sidelnikova A.A., Nacheva L.V. [Morphological changes of peripheral blood in dynamic observation in acute opisthorchiasis in experimental animals]. *Sovremennye problemy nauki i obrazovanija*. No. 6 (2016): pp. 504-512. (In Russ.).
9. Silachev D.N., Plotnikov E.Yu., Goryunov K.V. [The role of polyamines in the vital activity of cells of the reproductive system]. *Citologija*. V. 60, No. 3 (2018): pp. 164-172. (In Russ.).
10. Carriche G.M., Almeida L., Stüve P. et al. Regulating T-cell differentiation through the polyamine spermidine. *The journal of allergy and clinical Immunology*. V. 147, No. 1 (2021): pp. 335-348.
11. Equi A.M., Brown A.M., Cooper A., Her S.K., Watson A.B., Robins D.J. Oxidation of putrescine and cadaverine derivatives by diamine oxidases. *Tetrahedron*. V. 47, No. 3 (1991): pp. 507-518.
12. Fujisawa S., Kadoma Y. Kinetic evaluation of polyamines as radical scavengers. *Anticancer Research*. V. 25, No. 2A (2005): pp. 965-969.
13. Hesterberg R.S., Cleveland J.L., Epling-Burnette P.K. Role of polyamines in immune cell functions. *Medical sciences* (Basel, Switzerland). V. 6, No. 1 (2018): 22. doi: 10.3390/medsci6010022.
14. Kurihara S. Polyamine metabolism and transport in gut microbes. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*. V. 86, No. 8 (2022): pp. 957-966.
15. Lavizzari T., Breccia M., Bover-Cid S. et al. Histamine, cadaverine, and putrescine produced in vitro by enterobacteriaceae and pseudomonadaceae isolated from spinach. *Journal of food protection*. V. 73, No. 2 (2010): pp. 385-389.
16. Liu G., Zheng J., Wu X. et al. Putrescine enhances intestinal immune function and regulates intestinal bacteria in weaning piglets. *Food Function*. V. 10 (2019): pp. 4134-4142.
17. Mei Y., Ran L., Ying X. et al. A sequential injection analysis chemiluminescent plant tissue-based biosensor system for the determination of diamine. *Biosens Bioelectron*. V. 22, No. 6 (2007): pp. 871-876.
18. Puleston D.J., Baixauli F., Sanin D.E. et al. Polyamine metabolism is a central determinant of helper T cell lineage fidelity. *Cell*. V. 184 (2021): pp. 4186-4202.
19. Shah P., Nanduri B., Swiatlo E. et al. Polyamine biosynthesis and transport mechanisms are crucial for fitness and pathogenesis of *Streptococcus pneumoniae*. *Microbiology*. V. 57, No. 2 (2011): pp. 504-515.
20. Shah P., Swiatlo E. A multifaceted role for polyamines in bacterial pathogens. *Molecular microbiology*. V. 68, No. 1 (2008): pp. 4-16.
21. Shubin A.V., Demidyuk I.V., Komissarov A.A. Cytoplasmic vacuolization in cell death and survival. *Oncotarget*. V. 7, No. 34 (2016): pp. 55863-55889.
22. Tabor C.W., Tabor H. Polyamines in microorganisms. *Microbiological Reviews*. V. 49, No. 1 (1985): pp. 81-99.

Статья поступила в редакцию 24.05.2023; одобрена после рецензирования 09.06.2023; принята к публикации 02.10.2023.

The article was submitted 24.05.2023; approved after reviewing 09.06.2023; accepted for publication 02.10.2023.

Информация об авторах

И. А. Морозов – соискатель кафедры микробиологии и вирусологии, врач-терапевт Городской клинической больницы № 2 им. Ф. Х. Гралья;

А. П. Годовалов – к.м.н., ведущий научный сотрудник ЦНИЛ, доцент кафедры микробиологии и вирусологии.

Information about the authors

I. A. Morozov – researcher of the Department of microbiology and virology, General Practitioner of the city clinical hospital № 2 named after F. H. Gral;

A. P. Godovalov – candidate of medical sciences, Leading researcher of the central research institute, associate professor of the Department of microbiology and virology.

Вклад авторов:

Морозов И. А. – концепция исследования, написание исходного текста, итоговые выводы.

Годовалов А. П. – научное руководство, развитие методологии, статистическая обработка информации, итоговые выводы.

Contribution of the authors:

Morozov I. A. – research concept, writing the draft, final conclusions.

Godovalov A. P. – scientific management, methodology development, statistical information processing, final conclusions.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflicts of interests.

ИММУНОЛОГИЯ

Обзорная статья

УДК 616.34-002.2:612.017./062:612.438

doi: 10.17072/1994-9952-2023-3-287-296.

Мелатонин как перспективный фактор коррекции кишечного микробиома при воспалительных заболеваниях кишечника

Михаил Владимирович Осиков¹, Максим Валерьевич Гречишкин²✉, Юлия Сергеевна Шишкова³, Марина Анатольевна Ильиных⁴

¹⁻⁴ Южно-Уральский государственный медицинский университет Минздрава РФ, Челябинск, Россия

¹ prof.osikov@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6487-908>

²✉ max-gr2@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0005-6007-6407>

³ shishkova_yulia@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9221-7500>

⁴ tomak2001@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0015-4088>

Аннотация. Воспалительные заболевания кишечника (ВЗК) включают язвенный колит и болезнь Крона. Этиология и патогенез ВЗК остаются до конца не ясными, наиболее распространенная гипотеза заключается в том, что аномальный иммунный ответ против микробиома кишечника запускается факторами окружающей среды у генетически предрасположенных людей. Недостатком препаратов первой линии терапии при ВЗК является возникновение побочных эффектов более чем у 30% пациентов. В связи с этим актуальна разработка новых безопасных лекарственных средств, действующих преимущественно локально. Цель работы – проанализировать современные данные о механизмах и эффектах воздействия на микробиом кишечника мелатонина в контексте возможного применения при ВЗК. Мелатонин (МТ) – биологически активное вещество, синтезируется в организме из триптофана, реализует свои эффекты через МТ-зависимые и МТ-независимые рецепторы, которые находятся в клеточной мембране и ядре. МТ участвует в регуляции циркадных ритмов, обладает антиоксидантным и иммуномодулирующим действием. При экспериментальном моделировании ВЗК и в клинических условиях МТ уменьшает выраженность воспалительного процесса в стенке толстой кишки за счет прерывания процессов перекисного окисления липидов и инактивации свободных радикалов, а также за счет действия через специфические рецепторы на функцию клеток крови лимфоидных органов. МТ при ВЗК приводит к качественному и количественному изменению кишечного микробиома, устранению признаков дисбиоза, увеличению количества продуцентов короткоцепочечных жирных кислот – *Actinomycetota* (*Actinobacteria*) и уменьшению количества бактерий, которые повышают проницаемость кишечного барьера – *Bacteroidota* (*Bacteroidetes*). Предположительно МТ оказывает бактериостатический эффект, связывая свободное железо и действуя на сигнальные пути NF-κB и STAT1, что может быть фактором коррекции дисбиоза толстой кишки при ВЗК. Данные о влиянии МТ на состав кишечного микробиома являются предпосылкой для проведения дальнейших доклинических исследований и возможного применения мелатонина при ВЗК в клинической практике.

Ключевые слова: воспалительные заболевания кишечника, мелатонин, кишечный микробиом, коррекция

Для цитирования: Мелатонин как перспективный фактор коррекции кишечного микробиома при воспалительных заболеваниях кишечника / М. В. Осиков, М. В. Гречишкин, Ю. С. Шишкова, М. А. Ильиных // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2023. Вып. 3. С. 287–296. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2023-3-287-296>.

IMMUNOLOGY

Review article

Melatonin as a promising factor in correction of the intestinal microbiome in inflammatory bowel diseases

Michael V. Osikov¹, Maksim V. Grechishkin²✉, Yulia S. Shishkova³, Marina A. Ilyinykh⁴

¹⁻⁴ South State Medical University, Chelyabinsk, Russia

¹ prof.osikov@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6487-908>

²✉ max-gr2@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0005-6007-6407>

³ shishkova_yulia@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9221-7500>

⁴ tomak2001@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0015-4088>

Abstract. Inflammatory bowel diseases (IBD) include ulcerative colitis and Crohn's disease. The etiology and pathogenesis of IBD remain unclear, the most common hypothesis being that an abnormal immune response against the gut microbiome is triggered by environmental factors in genetically predisposed individuals. The disadvantages of

first-line therapy for IBD are the occurrence of side effects in more than 30% of patients. In this regard, the development of new safe drugs that act mainly locally is relevant. The aim of the work is to analyze current data on the mechanisms of action, effects on the intestinal microbiome of melatonin in the context of possible use in IBD. Melatonin (MT) is a biologically active substance, synthesized in the body from tryptophan, and realizes its effects through MT-dependent and MT-independent receptors located in the cell membrane and nucleus. MT is involved in the regulation of circadian rhythms, has antioxidant and immunomodulatory effects. In experimental modeling of IBD and in clinical conditions, MT reduces the severity of the inflammatory process in the wall of the colon by interrupting the processes of lipid peroxidation and inactivation of free radicals, as well as by acting through specific receptors on the function of blood cells of lymphoid organs. MT in IBD leads to a qualitative and quantitative change in the intestinal microbiome, elimination of signs of dysbiosis, an increase in the number of short-chain fatty acid producers - *Actinomycetota* (*Actinobacteria*) and a decrease in the number of bacteria that increase the permeability of the intestinal barrier - *Bacteroidota* (*Bacteroidetes*). Presumably, MT has a bacteriostatic effect by binding free iron and acting on the NF- κ B and STAT1 signaling pathways, which may be a factor in the correction of colon dysbiosis in IBD. Data on the effect of MT on the composition of the intestinal microbiome are a prerequisite for further preclinical studies and the possible use of melatonin in IBD in clinical practice.

Keywords: inflammatory bowel disease, melatonin, intestinal microbiome, correction

For citation: Osikov M. V., Grechishkin M. V., Shishkova Yu. S., Ilyinykh M. A. [Melatonin as a promising factor in correction of the intestinal microbiome in inflammatory bowel diseases]. *Bulletin of Perm University. Biology*. Iss. 3 (2023): pp. 287-296. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2023-2-287-296>.

Введение

Воспалительные заболевания кишечника (ВЗК) включают язвенный колит (ЯК) и болезнь Крона (БК) и представляют собой хронические заболевания желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), возникающие в результате неконтролируемых реакций слизистой оболочки, связанных с генетической предрасположенностью, факторами окружающей среды и кишечным микробиомом [Guan, 2019]. У пациентов с ВЗК наблюдаются вариации содержания бактерий, грибов, вирусов и других популяций микроорганизмов в микробиоме кишечника, а также регистрируется дисбаланс между комменсальными и условнопатогенными микроорганизмами [Lee et al., 2021]. В результате нарушения иммунологической толерантности и формирования дисбиоза в стенке кишки накапливаются клетки воспалительного ответа и усугубляются реакции, связанные с цитокинами, такими как фактор некроза опухоли (TNF- α), интерлейкин (IL)-1 β , IL-17, интерферон (IFN)- γ и др., которые приводят к активации лейкоцитов, разрушению стенки кишечника [Lee et al., 2021; Marié et al., 2021; Vakadaris et al., 2023]. При ВЗК хорошо изучены изменения количественного и качественного состава микробиома кишечника, видовое разнообразие варьирует в зависимости от варианта ВЗК: у пациентов с ЯК на фоне уменьшения *Bacteroidota* (*Bacteroidetes*) и *Bacillota* (*Firmicutes*) возрастает количество грамотрицательных *Enterobacteriaceae* (*Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Clostridium difficile*), в то время как при БК сокращается представительство *Clostridium* spp., а повышение *Escherichia coli* выражено в большей степени, чем при ЯК [Jeon et al., 2022]. *Bacteroidota* (*Bacteroidetes*) составляют около 30% всех кишечных бактерий и могут рассматриваться как одна из основных биот грамотрицательных бактерий в кишечнике [Ortiz et al., 2023]. Они выделяют токсины, включая поверхностный липополисахарид (LPS), токсичные протеолитические пептиды и бета-амилоид (A β). Эти бактериальные токсины могут изменять проницаемость гематоэнцефалического барьера или повышают проницаемость стенки кишечника. Присутствие LPS из *Bacteroides fragilis* в сыворотке крови вносит вклад в воспаление при ВЗК [da Silva et al., 2023]. Недостатками препаратов первой линии терапии при ВЗК, включая производные 5-аминосалициловой кислоты, глюкокортикостероиды, иммуносупрессоры, генно-инженерные биологические препараты, являются побочные эффекты, в том числе системная иммуносупрессия, индивидуальная непереносимость, рефрактерность более чем у 30% пациентов [Kim et al., 2022]. В связи с этим, востребованной становится разработка новых, обоснованных с патогенетических позиций и безопасных лекарственных средств преимущественно локального действия с активными веществами эндогенного или растительного происхождения. Ранее нами в доклинических условиях по данным клинико-морфологических, иммунологических и биохимических исследований продемонстрировано успешное применение оригинальных ректальных суппозиторий с витамином Д3, куркумином, ректальным и системным применением озона при экспериментальном моделировании ВЗК [Осиков, Симонян, Бакеева, 2020, Осиков и др., 2021, 2022; Осиков, Кайгородцева, 2022]. Среди биологически активных веществ может быть использован мелатонин (MT), обладающий pleiotropic свойствами. Его действие связано с регуляцией циркадных ритмов, предотвращением окислительного стресса, а также с уменьшением воспалительной инфильтрации тканей [Ma et al., 2020; da Silva et al., 2023]. Секреция MT в желудочно-кишечном тракте, на которую может влиять циркадный ритм, связана с потреблением пищи. MT участвует в регуляции моторной, секреторной и пищеварительной функции ЖКТ через мембранные рецепторы, включая рецептор мелатонина, серотонина (5-HT), а также путем ингибирования активности синтазы оксида азота (NOS) и никотиновых каналов [Liu, Wang, 2019]. У больных с

ВЗК часто встречаются нарушения сна, в том числе из-за ночных позывов к дефекации, тем самым нарушается синтез МТ. Это можно рассматривать как локальный десинхроноз, изолированный или протекающий на фоне общего десинхроноза. МТ может оказывать двойное действие — улучшать сон и способствовать лечению заболеваний ЖКТ [Vaccaro et al., 2023]. Некоторые исследования на животных показали, что лишение сна и нарушение циркадного ритма усиливают воспаление в толстой кишке у мышей, вызванное декстраном сульфата натрия (DSS) или 2,4,6-тринитробензолсульфоновой кислотой (TNBS), в то время как МТ значительно ослабляет проявление колита [Liu et al., 2017]. МТ изучается как средство для лечения ВЗК в исследованиях на животных и клинических условиях, при этом роль МТ в регуляции воспалительного процесса и микробиома при ВЗК не до конца изучены [da Silva et al., 2023].

Цель работы – провести критический анализ данных о механизмах действия, влиянии на микробиом кишечника в контексте возможного применения мелатонина при ВЗК, представленных в рецензируемых источниках, индексированных в базах данных Pubmed и Российского индекса научного цитирования за период 2019–2023 гг.

Мелатонин: общая характеристика

МТ – это индоламин, синтезируемый из триптофана, который вырабатывается шишковидной железой, слизистой оболочкой кишечника, естественными клетками-киллерами, энтерохромаффинными клетками (ЭК) и др. [Ma et al., 2020]. МТ синтезируется пинеалоцитами из триптофана, поступающего в организм с пищей. Попав с кровотоком в эпифиз, триптофан превращается в серотонин в два этапа, с участием ферментов триптофангидроксилазы и 5-окситриптофандекарбоксилазы. Затем, в две стадии, с помощью ферментов N-ацетилтрансферазы и оксииндол-О-метилтрансферазы из серотонина образуется МТ, который не накапливается в эпифизе, а немедленно выбрасывается в кровяное русло и ликвор. Концентрация МТ в ЖКТ может превосходить концентрацию в шишковидной железе в 400 раз, а в крови в 10–100 раз [Ma et al., 2020].

Рецепторы МТ присутствуют в клеточной мембране и в ядре, делятся на МТ-зависимые и МТ-независимые рецепторы [Reiter et al., 2017; Ma et al., 2020]. Мембранные рецепторы МТ1 и МТ2 относятся к семейству рецепторов, связанных с G-белком. Рецептор МТ1 часто связан с репродуктивной, метаболической и сосудосуживающей функциями, в то время как рецептор МТ2 участвует в контроле высвобождения дофамина и циркадного ритма в сетчатке глаза, а также в вазодилатации. Рецептор МТ3, расположенный в цитозоле, был идентифицирован как хинон-редуктаза-2, которая связана с метаболизмом ксенобиотиков в клетках. Ядерные рецепторы МТ представляют собой родственное ретиноидам подсемейство орфанных ядерных рецепторов (RORs) и ретиноидные Z-рецепторы (RZR). RORs включают три подтипа (α , β и γ) и четыре варианта сплайсинга в α -подтипе [Ma et al., 2020]. Только сплайс-вариант подтипа ROR α и подтип ROR γ связаны с действием МТ в ядре. ROR- γ t (вторая изоформа ROR γ) – орфанный ядерный рецептор, который служит ключевым регулятором иммунного баланса и выступает в качестве терапевтической мишени при воспалительных заболеваниях. ROR- γ t индуцирует экспрессию IL-6 и трансформирующего фактора роста β (TGF- β), эти связанные цитокины способны индуцировать транскрипцию генов, кодирующих IL-17 в T-хелперных клетках (Th)17 [Reiter et al., 2017].

Рецепторы МТ активируют различные сигнальные пути через гетеротримерные гуанозиндифосфат (GDP)/гуанозинтрифосфат (GTP)-связанные белки. Активация рецепторов вызывает диссоциацию гетеротримерных G-белков, в результате чего субъединица G α и комплекс G $\beta\gamma$ взаимодействуют с различными эффекторными молекулами, участвующими в клеточной передаче сигналов. К числу эффекторных систем, которые активируются МТ, относятся аденилатциклаза (АЦ), фосфолипаза С (PLC), фосфолипаза А2, калиевые каналы, гуанилатциклаза, кальциевые каналы [Nikolaev, Robeva, Konakchieva, 2021]. При активации рецепторов МТ1 и МТ2 аденилатциклаза ингибируется РТХ (коклюшный токсин)-чувствительными Gi-белками (изоформы Gai2 и Gai3), что приводит к снижению концентрации циклического аденозинмонофосфата (цАМФ). Снижение цАМФ впоследствии ингибирует активность протеинкиназы А и фосфорилирование ядерного фактора CREB (белок, связывающий чувствительный к цАМФ элемент) [Gao et al., 2022]. МТ играет роль в регуляции ритмической экспрессии так называемых «часовых генов» посредством передачи сигналов АЦ/цАМФ. Фосфорилированный CREB может связываться с промоторами этих генов и увеличивать их экспрессию. Индуцированный МТ сигнальный каскад в супрахиазматическом ядре модулирует циркадные ритмы, противодействуя эффекту PACAP (пептида, активирующего АЦ гипофиза), который индуцирует фосфорилирование CREB. При связывании МТ1 с белками Gq или через димеры Gi-G $\beta\gamma$ МТ стимулирует активность фосфолипазы С (PLC), которая превращает фосфатидилинозитол (PIP2) в диацилглицерин (DAG) и инозитол-1,4,5-трифосфат (IP3). Повышенные уровни DAG и IP3 активируют протеинкиназу С (PKC), передачу сигналов кальция с помощью кальмодулинкиназ (CaMK), стимулируют митоген-активируемые протеинкиназы (MAPK), включая внеклеточную сигнал-регулируемую киназу (ERK), c-Jun N-терминальные киназы (JNK) и p38 [Nikolaev, Robeva, Konakchieva, 2021].

Через рецепторы MT1 и MT2 MT регулирует циркадные ритмы. MT1 опосредуют Gi-зависимую активацию экспрессии «часовых» генов, калиевых каналов, связанных с G-белков [Nikolaev, Robeva, Konakchieva, 2021]. Хотя точный механизм влияния MT на «часовые» гены не ясен, показано, что нокаутирование гена рецептора MT1 приводит к снижению экспрессии гена PER1, CFOS и иных, участвующих в регуляции циркадных ритмов, а сам эффект опосредован активностью нейронов стриатума. MT контролирует светочувствительность сетчатки через гетеродимерный рецептор MT1/MT2 и активацию Gq-связанного сигнального пути Akt/FOXO1 [Liu et al., 2016].

MT оказывает физиологическое воздействие на репродукцию и половое созревание у млекопитающих, подавляя экспрессию гонадотропин-высвобождающего гормона (ГнРГ) циклически в течение 24-часового периода [Tordjman et al., 2017]. Ритмичный выброс ГнРГ контролирует секрецию лютеинизирующего гормона (ЛГ) и фолликулостимулирующего гормона. Суточный профиль секреции MT передает внутреннюю информацию, используемую как для циркадной, так и для сезонной временной организации. Ритмический паттерн MT увлекает за собой репродуктивный ритм через влияние фотопериода на пульсирующую секрецию ЛГ и, следовательно, опосредует сезонные колебания репродукции, отчетливо наблюдаемые у животных и умеренно – у человека [Kaupila et al., 1987].

MT обладает антиоксидантным действием, реализуемым его способностью нейтрализовать свободные радикалы, в том числе образующиеся при перекисном окислении липидов, а также за счет активации в его присутствии глутатионпероксидазы – мощного эндогенного фактора ферментативной защиты от свободного радикального окисления [Qin et al., 2022].

Через рецептор-зависимые и независимые пути MT участвует в иммуномодуляции. В рецептор-зависимом пути участвуют три типа рецепторов, включая мембранные рецепторы MT, ROR и RZR. В рецептор-независимом пути MT защищает организм от ионизирующего излучения, ультрафиолетового излучения, ишемии/реперфузии, токсичности тяжелых металлов, алкоголя и лекарств [Esteban-Zubero et al., 2017].

В макрофагах MT может изменять экспрессию генов, кодирующих TNF- α и IL-6 [Flemer et al., 2018]. Недавние исследования с использованием макрофагов показали, что MT преимущественно подавляет сигнальные преобразователи и активаторы транскрипции (STAT) и регуляторные факторы интерферона (IFN), связанные с передачей сигналов [Ma et al., 2020]. MT во время воспалительного ответа при участии арилалкиламин-N-ацетилтрансферазы, активированного ядерный фактор «каппа-би» (NF- κ B) пути опосредует выработку тучными клетками провоспалительных цитокинов, таких как TNF- α и IL-6 [Sibillano, Frossi, Pucillo, 2014].

MT контролирует активацию, дифференцировку и пролиферацию T-клеток. Регуляторное действие MT на рецепторы в T-клетках включает снижение продукции IFN- γ для подавления дифференцировки Th1, повышение продукции IL-4 и IL-10 для усиления дифференцировки Th2, ингибирование дифференцировки Th17 клеток, активизацию дифференцировки Treg клеток 1 типа, продуцирующих IL-10 [Lardone et al., 2010; Raphael et al., 2015]. MT стимулирует фолликулярные вспомогательные T-клетки памяти к выходу из фазы G0/G1 и стимулирует экспрессию мРНК CD28. В физиологических условиях MT подавляет высвобождение NO, который является ингибирующим фактором пролиферации лимфоцитов, таким образом влияя на пролиферацию B-лимфоцитов [Ma et al., 2020].

В экспериментальных моделях колита MT улучшает состояние толстой кишки при DSS-индуцированном колите путем уменьшения окислительного стресса [Jochum et al., 2023]. Улучшает состояние толстой кишки при TNBS-индуцированном колите через сигнальный путь TLR4/MyD88/NF- κ B у крыс, а также повышает уровень экспрессии генов IL-5 и IL-13 [Barnes et al., 2022]. В модели колита, индуцированного оксазолоном, MT ингибирует выработку IL-5, IL-13 и их мРНК в Th2 [Zhao et al., 2022].

MT способен отменять увеличение проницаемости кишечника и приток бактериальных эндотоксинов, снижать активность миелопероксидазы (MPO) и TNF- α в толстой кишке [Бурчаков, Успенская, 2017]. Способность MT модулировать воспалительный каскад, нейтрализовать свободные радикалы кислорода послужили убедительным основанием для изучения его эффективности при ВЗК и в клинических условиях [Zhao et al., 2022].

Мелатонин и микробиом толстой кишки

Циркадные часы, управляющие биоритмами, существуют у большинства эукариотических организмов, однако наличие таких часов у прокариот ограничено цианобактериями. В последнее время было обнаружено, что *Klebsiella aerogenes* реагирует на действие MT путем повышенной активности роения [Paulose et al., 2016].

Prevotella intermedia (*P. intermedia*) стимулирует макрофаги к производству медиаторов воспаления, таких как оксид азота и IL-6 в иммунных клетках, и служит основной причиной воспалительных заболеваний. MT эффективно блокирует NF- κ B сигнализацию, индуцированную *P. intermedia*, уменьшая ядер-

ную транслокацию и подавляя ДНК-связывающую активность p50 субъединицы NF-κB [Zhao et al., 2022].

S.W. Kim с соавторами показали, что введение МТ мышам улучшает состояние толстой кишки при DSS-индуцированном колите [Kim et al., 2020]. МТ ингибирует экспрессию провоспалительных медиаторов, таких как IL-1β и IL-17α, и корректирует дисбиоз кишечника [Kim et al., 2020]. Кроме того, МТ увеличивает количество бокаловидных клеток в кишечнике, которые продуцируют муцин и антимикробные пептиды, служащие защитой от патогенов, поддерживая таким образом гомеостаз слизистой оболочки кишечника и комменсальных бактерий, а также сегрегацию кишечных бактерий и эпителия. МТ повышает соотношение *Bacillota (Firmicutes)* и *Bacteroidota (Bacteroidetes)* при DSS-индуцированном колите, что расходится с данными других авторов о повышении численности *Bacillota (Firmicutes)* и снижении количества *Bacteroidota (Bacteroidetes)* и, вероятно, связано с различными бактериальными нишами в ЖКТ при взятии проб [Kim et al., 2020].

Результаты исследования J.L. da Silva et al. указывают на прямое или косвенное влияние МТ на состав фекального микробиома: увеличение *Actinomycetota (Actinobacteria)* и уменьшение *Bacteroidota (Bacteroidetes)*, в то время как в популяции *Bacillota (Firmicutes)* или *Pseudomonadota (Proteobacteria)* различий не было [da Silva et al., 2023]. Z.X. Zhao et al. показывают, что МТ снижает количество в толстой кишке *Desulfovibrio*, *Peptococcaceae* и *Lachnospiraceae*, которые участвуют в воспалении при ВЗК, и увеличивает количество *Bifidobacterium*, в результате чего *Bifidobacterium* колонизируют слизистый слой кишечника и модулируют выработку слизи бокаловидными клетками, прикрепляясь к кишечной слизи, выделяют метаболиты, которые повышают уровень основного муцина для поддержания целостности кишечника [Zhao et al., 2022].

Изучение роли МТ в патогенезе ВЗК только начинается. В клиническом исследовании обнаружено, что после терапии МТ в слизистой толстой кишки оказались менее выраженными воспалительные изменения, отсутствовали участки некрозов и язвенные изменения, наблюдалось восстановление ультраструктуры клеток эпителия и их количества [Бурчаков, Успенская, 2017].

Снижение уровня эндогенного МТ в толстой кишке вызывает дисбиоз микробиоты кишечника, сопровождающийся воспалением кишечника и повышением его проницаемости, и как следствие, микроорганизмы и токсины попадают в кровоток, увеличивается уровень провоспалительных факторов в крови (TNF-α и MCP-1), что приводит к хроническому системному воспалению, изменяет плотные контакты и повреждает клетки, составляющие гематоэнцефалический барьер, способствуя активному переносу провоспалительных факторов из крови в мозг, что в конечном итоге приводит к болезни Альцгеймера, активации микроглии и отложению белка Аβ [Zhang et al., 2022].

Обнаружено, что микробиом толстой кишки и МТ могут взаимодействовать при регуляции липидного обмена [Pan et al., 2022]. МТ уменьшает качественный и количественный состав микробиома толстой кишки у мышей с ожирением, вызванным диетой с высоким содержанием жиров, в то же время МТ значительно увеличивает относительную численность *Akkermansia*, которые играют роль в снижении веса у людей с ожирением [Pan et al., 2022].

Сообщается, что МТ обладает высокой способностью связывать металлы, включая железо. J. Limson et al. заметили, что МТ и его предшественники проявляют способность связывать металлы *in situ*. I. Gulcin et al. также отметили, что МТ является эффективным хелатирующим агентом металлов [Limson, Nyokong, Daya, 1998; Gulcin, Buyukokuroglu, Kufrevioglu, 2003]. Обычно считается, что эта особенность МТ связана с антиоксидантными свойствами, делая переходные металлы недоступными для реакции Фентона. В случае бактериального роста большое значение имеет агент, связывающий свободное железо в цитоплазме. Поскольку МТ легко преодолевает все биологические барьеры, включая клеточную стенку бактерий, он может связывать свободное железо в цитоплазме и с помощью этого механизма ограничивать рост бактерий. МТ оказывает антибактериальное действие *in vitro* на *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *E. coli*, *H. Pylori*, *K. pneumoniae* [He et al., 2021]. Способность МТ связывать свободные металлы может являться предпосылкой изменения микробиоты толстой кишки в условиях его применения.

В работе Y. Wu et al. продемонстрирован терапевтический эффект МТ на остеолит, индуцированный частицами титана, кроме того, впервые был полностью раскрыт механизм, благодаря которому введение МТ устраняло дисбиоз, вызванный остеолитом, увеличивало относительное количество микробов, продуцирующих короткоцепочечные жирные кислоты, усиливало экспрессию ферментов синтеза бутирата и повышало концентрацию бутирата в кале [Wu et al., 2021].

Заключение

Таким образом, МТ – это биологически активное вещество, синтезируемое из триптофана шишковидной железой, также продуцируется слизистой оболочкой кишечника, естественными клетками-киллерами, энтерохромаффинными клетками и эндотелиальными клетками. МТ реализует свои эффекты через мелатонин-зависимые и независимые рецепторы, которые находятся в клеточной мембране и ядре. Функции МТ разнообразны: он регулирует циркадные ритмы, обладает антиоксидантными и иммуномодулирующими свойствами, регулирует репродукцию и половое созревание у млекопитающих.

При экспериментальном моделировании ВЗК МТ улучшает состояние толстой кишки, воздействуя на бокаловидные и стволовые клетки, влияя на микробиом кишечника и иммунный ответ, уменьшая окислительный стресс. МТ может устранять микробный дисбиоз в толстой кишке при ВЗК, способствует увеличению количества бактерий-продуцентов короткоцепочечных жирных кислот, например *Actinomyces* (*Actinobacteria*), к которым относится *Bifidobacterium* и уменьшению количества бактерий, повышающих проницаемость кишечного барьера, и вносят вклад в воспаление при ВЗК, например *Bacteroidota* (*Bacteroidetes*); также МТ может оказывать бактериостатический эффект путем связывания свободного железа в цитоплазме бактерий.

Представленные данные позволяют предположить, что МТ можно рассматривать как фактор коррекции дисбиоза толстой кишки при ВЗК, что может быть сопряжено с изменениями локального иммунного статуса, воспалительного процесса в стенке толстой кишки, с уменьшением окислительного стресса и в конечном итоге приводить к улучшению клинико-морфологической картины при ВЗК (рисунок).



Предполагаемые механизмы влияния мелатонина на микробиом кишечника и патогенетические факторы при ВЗК

[Proposed mechanisms of melatonin influence on the intestinal microbiome and pathogenetic factors in IBD]

С учетом действия МТ и его доступности, МТ является привлекательным терапевтическим средством для лечения ВЗК у пациентов. В связи с этим, необходимо дальнейшее изучение состояния факторов локального иммунитета и его связи с динамикой качественного и количественного состава микробиома кишечника при ВЗК в условиях применения МТ.

Список источников

1. Бурчаков Д.И., Успенская Ю.Б. Антиоксидантный, противовоспалительный и седативный эффекты мелатонина: результаты клинических исследований // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. Спецвыпуски. 2017. № 4(2). С. 67–73. <https://doi.org/10.17116/jnevro20171174267-73>.
2. Осиков М.В., Кайгородцева Н. Сравнительный анализ противовоспалительного действия озона и 5-аминосалициловой кислоты при экспериментальном колите // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2022. Т. 66, № 3. С. 91–100.
3. Осиков М.В., Симонян Е.В., Бакеева А.Е. Влияние экстракта корневищ куркумы длинной в составе

ректальных суппозиториях на показатели перекисного окисления липидов в толстом кишечнике при экспериментальной болезни Крона // *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2020. Т. 175(3). С. 80–86. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-175-3-80-86.

4. Осиков М.В. и др. Морфологические аспекты протекторного действия оригинальных ректальных суппозиториях с экстрактом куркумы при экспериментальной болезни Крона // *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2021. Т. 65, № 2. С. 67–77.

5. Осиков М.В. и др. Влияние витамина D3 в составе оригинальных ректальных суппозиториях на показатели окислительной модификации белков в толстом кишечнике при экспериментальном язвенном колите // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2020. Т. 170, № 11. С. 563–568.

6. Barnes A. et al. Systematic review and meta-analysis of sleep quality in inactive inflammatory bowel disease // *JGH Open*. 2022. Vol. 6, № 11. P. 738–744. doi: 10.1002/jgh3.12817.

7. da Silva J.L. et al. The Microbiota-Dependent Worsening Effects of Melatonin on Gut Inflammation // *Microorganisms*. 2023. Vol. 11, № 2. P. 460. doi: 10.3390/microorganisms11020460.

8. Esteban-Zubero E. et al. Melatonin's role as a co-adjutant treatment in colonic diseases: A review // *Life Sci*. 2017. Vol. 170. P. 72–81. doi: 10.1016/j.lfs.2016.11.031.

9. Flemer B. et al. Tumour-associated and non-tumour-associated microbiota: Addendum // *Gut Microbes*. 2018. Jul 4; 9(4). P. 369–373. doi: 10.1080/19490976.2018.1435246.

10. Gao Y. et al. Melatonin Receptors: A Key Mediator in Animal Reproduction // *Vet. Sci*. 2022. Vol. 9, № 7. P. 10. doi: 10.3390/vetsci9070309.

11. Guan Q. A Comprehensive Review and Update on the Pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease // *Journal of Immunology Research*. 2019. Vol. 2019. Article number. 7247238. P. 16. doi: 10.1155/2019/7247238.

12. Gulcin I., Buyukokuroglu M.E., Kufrevioglu O.I. Metal chelating and hydrogen peroxide scavenging effects of melatonin // *J. Pineal. Res*. 2003. May; 34(4). P. 278–281. doi: 10.1034/j.1600-079x.2003.00042.x.

13. He F. et al. Bacteriostatic Potential of Melatonin: Therapeutic Standing and Mechanistic Insights // *Front Immunol*. 2021. May. 31, 12. P. 683879. doi: 10.3389/fimmu.2021.683879.

14. Jeon H. et al. TDAG51 deficiency attenuates dextran sulfate sodium-induced colitis in mice // *Sci Rep*. 2022. Vol. 12, № 1. P. 13. doi: 10.1038/s41598-022-24873-4.

15. Jochum S.B. et al. Colonic Epithelial Circadian Disruption Worsens Dextran Sulfate Sodium-Induced Colitis // *Inflamm. Bowel. Dis*. 2023. Vol. 29, № 3. P. 444–457. doi: 10.1093/ibd/izac219.

16. Kauppila A. et al. Inverse seasonal relationship between melatonin and ovarian activity in humans in a region with a strong seasonal contrast in luminosity // *J. Clin. Endocrinol. Metab*. 1987. Vol. 65, № 5. P. 823–828. doi: 10.1210/jcem-65-5-823.

17. Kim S. et al. Sirtuin 7 Inhibitor Attenuates Colonic Mucosal Immune Activation in Mice-Potential Therapeutic Target in Inflammatory Bowel Disease // *Biomedicines*. 2022. Vol. 10, № 11. P. 10. doi: 10.3390/biomedicines10112693.

18. Kim S.W. et al. Melatonin controls microbiota in colitis by goblet cell differentiation and antimicrobial peptide production through Toll-like receptor 4 signalling // *Sci. Rep*. 2020. Vol. 10, № 1. P. 9. doi: 10.1038/s41598-020-59314-7.

19. Lardone P.J. et al. Blocking of melatonin synthesis and MT(1) receptor impairs the activation of Jurkat T cells // *Cell Mol. Life Sci*. 2010. Vol. 67, № 18. P. 3163–3172. doi: 10.1007/s00018-010-0374-y.

20. Lee J.W.J. et al. Multi-omics reveal microbial determinants impacting responses to biologic therapies in inflammatory bowel disease // *Cell Host Microbe*. 2021. Vol. 29, № 8. P. 1294–1304. doi: 10.1016/j.chom.2021.06.019.

21. Limson J., Nyokong T., Daya S. The interaction of melatonin and its precursors with aluminium, cadmium, copper, iron, lead, and zinc: an adsorptive voltammetric study // *J. Pineal. Res*. 1998. Jan; 24(1). P. 15–21. doi: 10.1111/j.1600-079x.1998.tb00361.x.

22. Liu G. et al. Melatonin alters amino acid metabolism and inflammatory responses in colitis mice // *Amino Acids*. 2017. Vol. 49, № 12. P. 2065–2071. doi: 10.1007/s00726-017-2489-z.

23. Liu J. et al. MT1 and MT2 Melatonin Receptors: A Therapeutic Perspective // *Annu Rev. Pharmacol. Toxicol*. 2016. Vol. 56. P. 361–383. doi: 10.1146/annurev-pharmtox-010814-124742.

24. Liu X.W., Wang C.D. Melatonin alleviates circadian rhythm disruption exacerbating DSS-induced colitis by inhibiting the distribution of HMGB1 in intestinal tissues // *Int. Immunopharmacol*. 2019. Vol. 73. P. 108–117. doi: 10.1016/j.intimp.2019.05.005.

25. Ma N. et al. Melatonin mediates mucosal immune cells, microbial metabolism, and rhythm crosstalk: A therapeutic target to reduce intestinal inflammation // *Med. Res. Rev*. 2020. Vol. 40, № 2. P. 606–632. doi: 10.1002/med.21628.

26. Marié I.J. et al. Tonic interferon restricts pathogenic IL-17-driven inflammatory disease via balancing the microbiome // *eLife*. 2021. Vol. 10. Article number e68371. P. 20. doi: 10.7554/eLife.68371.

27. Nikolaev G., Robeva R., Konakchieva R. Membrane Melatonin Receptors Activated Cell Signaling in Physiology and Disease // *Int. J. Mol. Sci*. 2021. Vol. 23, № 1. P. 23. doi: 10.3390/ijms23010471.

28. Qin T. et al. Melatonin Suppresses LPS-Induced Oxidative Stress in Dendritic Cells for Inflammatory Regulation via the Nrf2/HO-1 Axis // *Antioxidants (Basel)*. 2022. Vol. 11, № 10. P. 12. doi: 10.3390/antiox11102012.

29. Ortiz A.M. et al. Experimental bacterial dysbiosis with consequent immune alterations increase intrarectal SIV acquisition susceptibility // *Cell Rep.* 2023. Vol. 42, № 1. P. 15. doi: 10.1016/j.celrep.2023.112020.
30. Pan S. et al. Therapeutic potential of melatonin in colorectal cancer: Focus on lipid metabolism and gut microbiota // *Biochim. Biophys. Acta Mol. Basis. Dis.* 2022. Jan 1. 1868(1). P. 166281. doi: 10.1016/j.bbadis.2021.166281.
31. Paulose J.K. et al. Human Gut Bacteria Are Sensitive to Melatonin and Express Endogenous Circadian Rhythmicity // *PLoS One.* 2016. Vol. 11, № 1. P. 9. doi: 10.1371/journal.pone.0146643.
32. Raphael I. et al. T cell subsets and their signature cytokines in autoimmune and inflammatory diseases // *Cytokine.* 2015. Vol. 74, № 1. P. 5–17. doi: 10.1016/j.cyto.2014.09.011.
33. Reiter R.J. et al. Melatonin as a mitochondria-targeted antioxidant: one of evolution's best ideas // *Cell Mol Life Sci.* 2017. Vol. 74, № 21. P. 3863–3881. doi: 10.1007/s00018-017-2609-7.
34. Sibilano R., Frossi B., Pucillo C.E. Mast cell activation: a complex interplay of positive and negative signaling pathways. *Eur J Immunol.* 2014. Vol. 44, № 9. P. 2558–2566. doi: 10.1002/eji.201444546.
35. Tordjman S. et al. Melatonin: Pharmacology, Functions and Therapeutic Benefits // *Curr. Neuropharmacol.* 2017. Vol. 15, № 3. P. 434–443. doi: 10.2174/1570159X14666161228122115.
36. Vaccaro R. et al. Serotonin and Melatonin in Human Lower Gastrointestinal Tract // *Diagnostics (Basel).* 2023. Vol. 13, № 2. P. 9. doi: 10.3390/diagnostics13020204.
37. Vakadaris G. et al. The Role of Probiotics in Inducing and Maintaining Remission in Crohn's Disease and Ulcerative Colitis: A // Systematic Review of the Literature. *Biomedicines.* 2023. Vol. 11, № 2. P. 494. doi: 10.3390/biomedicines11020494.
38. Wu Y. et al. Melatonin alleviates titanium nanoparticles induced osteolysis via activation of butyrate/GPR109A signaling pathway // *J. Nanobiotechnology.* 2021. Jun. 6. 19(1). P. 170. doi: 10.1186/s12951-021-00915-3.
39. Zhang B. et al. Gut Microbiota Dysbiosis Induced by Decreasing Endogenous Melatonin Mediates the Pathogenesis of Alzheimer's Disease and Obesity // *Front Immunol.* 2022. May 10. 13. 900132. doi: 10.3389/fimmu.2022.900132.
40. Zhao Z.X. et al. Melatonin Mitigates Oxazolone-Induced Colitis in Microbiota-Dependent Manner // *Front Immunol.* 2022. Vol. 12. Article number 783806. P. 11. doi: 10.3389/fimmu.2021.783806.

References

1. Burchakov D.I., Uspenskaya Yu.B. [Antioxidant, anti-inflammatory and sedative effects of melatonin: results of clinical studies]. *Zhurnal nevrologii i psichiatrii imeni S. S. Korsakova.* Special issues. No. 4(2) (2017): pp. 67-73. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/jnevro20171174267-73>.
2. Osikov M.V., Kaygorodtseva N. [Comparative analysis of the anti-inflammatory effect of ozone and 5-aminosalicylic acid in experimental colitis]. *Patologičeskaja fiziologija i eksperimental'naja terapija.* V. 66, No. 3 (2022): pp. 91-100. (In Russ.).
3. Osikov M.V., Simonyan E.V., Bakeeva A.E. [Influence of turmeric rhizome extract in the composition of rectal suppositories on lipid peroxidation in the large intestine in experimental Crohn's disease]. *Èksperimental'naja i kliničeskaja gastroènterologija.* V. 175(3) (2020): pp. 80-86. (In Russ.). DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-175-3-80-86.
4. Osikov M.V., Simonyan E.V., Bakeeva A.E., Astakhova L.V. [Morphological aspects of the protective action of the original rectal suppositories with turmeric extract in experimental Crohn's disease]. *Patologičeskaja fiziologija i eksperimental'naja terapija.* V. 65, No. 2 (2021): pp. 67-77. (In Russ.).
5. Osikov M.V., Simonyan E.V., Boyko M.S., Ogneva O.I., Ilinykh M.A., Vorgova L.V., Bogomolova A.M. [Influence of vitamin D3 in the composition of the original rectal suppositories on the indicators of oxidative modification of proteins in the large intestine in experimental ulcerative colitis]. *Bjulleten' èksperimental'noj biologii i mediciny.* V. 170, No. 11 (2020): pp. 563-568. (In Russ.).
6. Barnes A., Mountfield R., Baker J., Spizzo P., Bampton P., Mukherjee S. Systematic review and meta-analysis of sleep quality in inactive inflammatory bowel disease. *JGH Open.* V. 6, No. 11 (2022): pp. 738-744. doi: 10.1002/jgh3.12817.
7. da Silva J.L., Barbosa L.V., Pinzan C.F., Nardini V., Brigo I.S., Sebastião C.A., Elias-Oliveira J., Brazão V., Júnior J.C.D.P., Carlos D., Cardoso C.R.B. The Microbiota-Dependent Worsening Effects of Melatonin on Gut Inflammation. *Microorganisms.* V. 11, No. 2 (2023): p. 460. doi: 10.3390/microorganisms11020460.
8. Esteban-Zubero E., López-Pingarrón L., Alatorre-Jiménez M.A., Ochoa-Moneo P., Buisac-Ramón C., Rivas-Jiménez M., Castán-Ruiz S., Antoñanzas-Lombarte Á., Tan D.X., García J.J., Reiter R.J. Melatonin's role as a co-adjutant treatment in colonic diseases: A review. *Life Sci.* V. 170 (2017): pp. 72-81. doi: 10.1016/j.lfs.2016.11.031.
9. Flemer B., Herlihy M., O'Riordain M., Shanahan F., O'Toole P.W. Tumour-associated and non-tumour-associated microbiota: Addendum. *Gut Microbes.* Jul 4. V. 9(4) (2018): pp. 369-373. doi: 10.1080/19490976.2018.1435246.
10. Gao Y., Zhao S., Zhang Y., Zhang Q. Melatonin Receptors: A Key Mediator in Animal Reproduction. *Vet Sci.* V. 9, No. 7 (2022): p. 10. doi: 10.3390/vetsci9070309.
11. Guan Q. A Comprehensive Review and Update on the Pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease.

- Journal of Immunology Research*. V. 2019, Article number 7247238 (2019): p. 16. doi: 10.1155/2019/7247238.
12. Gulcin I., Buyukokuroglu M.E., Kufrevioglu O.I. Metal chelating and hydrogen peroxide scavenging effects of melatonin. *J. Pineal. Res.* May; V. 34(4) (2003): pp. 278-281. doi: 10.1034/j.1600-079x.2003.00042.x.
 13. He F., Wu X., Zhang Q., Li Y., Ye Y., Li P., Chen S., Peng Y., Hardeland R., Xia Y. Bacteriostatic Potential of Melatonin: Therapeutic Standing and Mechanistic Insights. *Front Immunol.* May V. 31, 12 (2021): 683879. doi: 10.3389/fimmu.2021.683879.
 14. Jeon H., Amarasekara D.S., Lee N., Park H.W., Yu J., Rho J. TDAG51 deficiency attenuates dextran sulfate sodium-induced colitis in mice. *Sci. Rep.* V. 12, No. 1 (2022): p. 13. doi: 10.1038/s41598-022-24873-4.
 15. Jochum S.B., Engen P.A., Shaikh M., Naqib A., Wilber S., Raeisi S., Zhang L., Song S., Sanzo G., Chouhan V., Ko F., Post Z., Tran L., Ramirez V., Green S.J., Khazaie K., Hayden D.M., Brown M.J., Voigt R.M., Forsyth C.B., Keshavarzian A., Swanson G.R. Colonic Epithelial Circadian Disruption Worsens Dextran Sulfate Sodium-Induced Colitis. *Inflamm. Bowel. Dis.* V. 29, No. 3 (2023): pp. 444-457. doi: 10.1093/ibd/izac219.
 16. Kauppila A., Kivelä A., Pakarinen A., Vakkuri O. Inverse seasonal relationship between melatonin and ovarian activity in humans in a region with a strong seasonal contrast in luminosity. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* V. 65, No. 5 (1987): pp. 823-828. doi: 10.1210/jcem-65-5-823.
 17. Kim S., Byun J., Jung S., Kim B., Lee K., Jeon H., Lee J., Choi H., Kim E., Jeon Y., Lee H., Chun H., Keum B., Kim T. Sirtuin 7 Inhibitor Attenuates Colonic Mucosal Immune Activation in Mice-Potential Therapeutic Target in Inflammatory Bowel Disease. *Biomedicines.* V. 10, No. 11 (2022): p. 10. doi: 10.3390/biomedicines10112693.
 18. Kim S.W., Kim S., Son M., Cheon J.H., Park Y.S. Melatonin controls microbiota in colitis by goblet cell differentiation and antimicrobial peptide production through Toll-like receptor 4 signalling. *Sci. Rep.* V. 10, No. 1 (2020): p. 9. doi: 10.1038/s41598-020-59314-7.
 19. Lardone P.J., Rubio A., Cerrillo I., Gómez-Corvera A., Carrillo-Vico A., Sanchez-Hidalgo M., Guerrero J.M., Fernandez-Riejos P., Sanchez-Margalet V., Molinero P. Blocking of melatonin synthesis and MT(1) receptor impairs the activation of Jurkat T cells. *Cell Mol. Life Sci.* V. 67, No. 18 (2010): pp. 3163-3172. doi: 10.1007/s00018-010-0374-y.
 20. Lee J.W.J., Plichta D., Hogstrom L., Borren N.Z., Lau H., Gregory S.M., Tan W., Khalili H., Clish C., Vlamiakis H. et al. Multi-omics reveal microbial determinants impacting responses to biologic therapies in inflammatory bowel disease. *Cell Host Microbe.* V. 29, No. 8 (2021): pp. 1294-1304. doi: 10.1016/j.chom.2021.06.019.
 21. Limson J., Nyokong T., Daya S. The interaction of melatonin and its precursors with aluminium, cadmium, copper, iron, lead, and zinc: an adsorptive voltammetric study. *J. Pineal. Res.* Jan; V. 24(1) (1998): pp. 15-21. doi: 10.1111/j.1600-079x.1998.tb00361.x.
 22. Liu G., Jiang Q., Chen S., Fang J., Ren W., Yin J., Yao K., Yin Y. Melatonin alters amino acid metabolism and inflammatory responses in colitis mice. *Amino Acids.* V. 49, No. 12 (2017): pp. 2065-2071. doi: 10.1007/s00726-017-2489-z.
 23. Liu J., Clough S.J., Hutchinson A.J., Adamah-Biassi E.B., Popovska-Gorevski M, Dubocovich ML. MT1 and MT2 Melatonin Receptors: A Therapeutic Perspective. *Annu Rev. Pharmacol. Toxicol.* V. 56 (2016): pp. 361-383. doi: 10.1146/annurev-pharmtox-010814-124742.
 24. Liu X.W., Wang C.D. Melatonin alleviates circadian rhythm disruption exacerbating DSS-induced colitis by inhibiting the distribution of HMGB1 in intestinal tissues. *Int. Immunopharmacol.* V. 73 (2019): pp. 108-117. doi: 10.1016/j.intimp.2019.05.005.
 25. Ma N., Zhang J., Reiter R.J., Ma X. Melatonin mediates mucosal immune cells, microbial metabolism, and rhythm crosstalk: A therapeutic target to reduce intestinal inflammation. *Med. Res. Rev.* V. 40, No. 2 (2020): pp. 606-632. doi: 10.1002/med.21628.
 26. Marié I.J., Brambilla L., Azzouz D., Chen Z., Baracho G.V., Arnett A., Li H.S., Liu W., Cimmino L., Chattopadhyay P. et al. Tonic interferon restricts pathogenic IL-17-driven inflammatory disease via balancing the microbiome. *eLife.* V. 10, Article number e68371 (2021): p. 20. doi: 10.7554/eLife.68371.
 27. Nikolaev G., Robeva R., Konakchieva R. Membrane Melatonin Receptors Activated Cell Signaling in Physiology and Disease. *Int. J. Mol. Sci.* V. 23, No. 1 (2021): p. 23. doi: 10.3390/ijms23010471.
 28. Qin T., Feng D., Zhou B., Bai L., Yin Y. Melatonin Suppresses LPS-Induced Oxidative Stress in Dendritic Cells for Inflammatory Regulation via the Nrf2/HO-1 Axis. *Antioxidants (Basel).* V. 11, No. 10 (2022): p. 12. doi: 10.3390/antiox11102012.
 29. Ortiz A.M., Baker P.J., Langner C.A., Simpson J., Stacy A., Flynn J.K., Starke C.E., Vinton C.L., Fennessey C.M., Belkaid Y., Keele B.F., Brenchley J.M. Experimental bacterial dysbiosis with consequent immune alterations increase intrarectal SIV acquisition susceptibility. *Cell Rep.* V. 42, No. 1 (2023): p. 15. doi: 10.1016/j.celrep.2023.112020.
 30. Pan S., Guo Y., Hong F., Xu P., Zhai Y. Therapeutic potential of melatonin in colorectal cancer: Focus on lipid metabolism and gut microbiota. *Biochim. Biophys. Acta Mol. Basis. Dis.* Jan 1; V. 1868(1) (2022): 166281. doi: 10.1016/j.bbdis.2021.166281.
 31. Paulose J.K., Wright J.M., Patel A.G., Cassone V.M. Human Gut Bacteria Are Sensitive to Melatonin and Express Endogenous Circadian Rhythmicity. *PLoS One.* V. 11, No. 1 (2016): p. 9. doi: 10.1371/journal.pone.0146643.
 32. Raphael I., Nalawade S., Eagar T.N., Forsthuber T.G. T cell subsets and their signature cytokines in auto-immune and inflammatory diseases. *Cytokine.* V. 74, No. 1 (2015): pp. 5-17. doi: 10.1016/j.cyto.2014.09.011.

33. Reiter R.J., Rosales-Corral S., Tan D.X., Jou M.J., Galano A., Xu B. Melatonin as a mitochondria-targeted antioxidant: one of evolution's best ideas. *Cell Mol. Life Sci.* V. 74, No. 21 (2017): pp. 3863-3881. doi: 10.1007/s00018-017-2609-7.

34. Sibilano R., Frossi B., Pucillo C.E. Mast cell activation: a complex interplay of positive and negative signaling pathways. *Eur. J. Immunol.* V. 44, No. 9 (2014): pp. 2558-2566. doi: 10.1002/eji.201444546.

35. Tordjman S., Chokron S., Delorme R., Charrier A., Bellissant E., Jaafari N., Fougere C. Melatonin: Pharmacology, Functions and Therapeutic Benefits. *Curr. Neuropharmacol.* V. 15, No. 3 (2017): pp. 434-443. doi: 10.2174/1570159X14666161228122115.

36. Vaccaro R., Casini A., Severi C., Lamazza A., Pronio A., Palma R. Serotonin and Melatonin in Human Lower Gastrointestinal Tract. *Diagnostics* (Basel). V. 13, No. 2 (2023): p. 9. doi: 10.3390/diagnostics13020204.

37. Vakadaris G, Stefanis C, Giorgi E, Brouvalis M, Voidarou CC, Kourkoutas Y, Tsigalou C, Bezirtzoglou E. The Role of Probiotics in Inducing and Maintaining Remission in Crohn's Disease and Ulcerative Colitis: A *Systematic Review of the Literature*. *Biomedicines*. V. 11, No. 2 (2023): p. 494. doi: 10.3390/biomedicines11020494.

38. Wu Y., He F., Zhang C., Zhang Q., Su X., Zhu X., Liu A., Shi W., Lin W., Jin Z., Yang H., Lin J. Melatonin alleviates titanium nanoparticles induced osteolysis via activation of butyrate/GPR109A signaling pathway. *J. Nanobiotechnology*. Jun 6; V. 19(1) (2021): p. 170. doi: 10.1186/s12951-021-00915-3.

39. Zhang B., Chen T., Cao M., Yuan C., Reiter R.J., Zhao Z., Zhao Y., Chen L., Fan W., Wang X., Zhou X., Li C. Gut Microbiota Dysbiosis Induced by Decreasing Endogenous Melatonin Mediates the Pathogenesis of Alzheimer's Disease and Obesity. *Front Immunol.* May 10; V. 13 (2022): 900132. doi: 10.3389/fimmu.2022.900132.

40. Zhao Z.X., Yuan X., Cui Y.Y., Liu J., Shen J., Jin B.Y., Feng B.C., Zhai Y.J., Zheng M.Q., Kou G.J., Zhou R.C., Li L.X., Zuo X.L., Li S.Y., Li Y.Q. Melatonin Mitigates Oxazolone-Induced Colitis in Microbiota-Dependent Manner. *Front Immunol.* V. 12. Article number 783806 (2022): p. 11. doi: 10.3389/fimmu.2021.783806.

Статья поступила в редакцию 15.05.2023; одобрена после рецензирования 05.06.2023; принята к публикации 02.10.2023.

The article was submitted 15.05.2023; approved after reviewing 05.06.2023; accepted for publication 02.10.2023.

Информация об авторах

М. В. Осиков – доктор медицинских наук, профессор, зав. кафедрой патофизиологии;

М. В. Гречишкин – лаборант кафедры патофизиологии, специалист отдела инновационной работы управления по научной и инновационной работе;

Ю. С. Шишкова – доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии;

М. А. Ильиных – кандидат биологических наук, доцент кафедры патофизиологии.

Information about the authors

M. V. Osikov – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head Department of Pathophysiology;

M. V. Grechishkin – laboratory assistant of the Department of Pathophysiology, specialist of the Department of Innovative Work of the Department for Scientific and Innovative Work;

Yu. S. Shishkova – Doctor of Medical Sciences, Professor, Professor of the Department of Microbiology, Virology and Immunology;

M. A. Ilinykh – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor of the Department of Pathophysiology.

Вклад авторов:

Осиков М. В. – научное руководство; концепция исследования; развитие методологии; итоговые выводы.

Гречишкин М. В. – написание исходного текста; итоговые выводы.

Шишкова Ю. С. – научное руководство; доработка текста; итоговые выводы.

Ильиных М. А. – оформление текста; итоговые выводы.

Contribution of the authors:

Osikov M. V. – scientific guide; research concept; development of methodology; final conclusions.

Grechishkin M. V. – writing the original text; final conclusions.

Shishkova Yu. S. – scientific guide; revision of the text; final conclusions.

Ilinykh M. A. – text design; final conclusions.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflicts of interests.

БОТАНИКА

Научная статья

УДК ...

doi: 10.17072/1994-9952-202_-_-...-....

Правила оформления статей в Вестник Пермского университета. Серия Биология

Иван Иванович Иванов^{1✉}, **Петр Петрович Петров**², **Семен Семенович Сидоров**³

^{1✉} Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия, ivanovii@mail.ru, <https://orcid.org/XXXX-XXXX-XXXX-XXXX>

² Московский государственный университет, Москва, Россия, PPetrov@yandex.ru, <https://orcid.org/XXXX-XXXX-XXXX-XXXX>

³ Ростовский государственный педагогический университет, Ростов, Россия, Sid709@iegm.ru, <https://orcid.org/XXXX-XXXX-XXXX-XXXX>

Аннотация. В аннотации отражается основное содержание статьи: актуальность, материал и методика, основные результаты. Аннотация должна содержать от 150 до 250 слов. Например: определен показатель жизнеспособности лиофилизированных культур *Rhodococcus ssp.* после длительного хранения, достаточный для восстановления клеточной популяции. Консервацию алканотрофных родококков рекомендовано производить в условиях предварительного их культивирования на питательных средах. Ключевых слов или словосочетаний должно быть не более 15; они должны отделяться друг от друга запятой, точка в конце не ставится.

Ключевые слова: оформление, статья, правила

Для цитирования: Иванов И. И., Петров П. П., Сидоров С. С. Правила оформления статей в Вестник Пермского университета. Серия Биология // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 202_. Вып. _. С. ...-....

Благодарности: работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, проект № 17-77-3019; авторы выражают благодарность Алексею Вадимовичу Зимину за предоставление данных о донной топографии в Белом море.

BOTANY

Original article

Rules for the registration of articles in the Bulletin of Perm University. Biology Series

Ivan I. Ivanov^{1✉}, **Petr P. Petrov**², **Semyon S. Sidorov**³

^{1✉} Perm State University, Perm, Russia, ivanovii@mail.ru, <https://orcid.org/XXXX-XXXX-XXXX-XXXX>

² Moscow State University, Moscow, Russia, PPetrov@yandex.ru, <https://orcid.org/XXXX-XXXX-XXXX-XXXX>

³ Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms of the Ural Branch RAS, Perm, Russia, <https://orcid.org/XXXX-XXXX-XXXX-XXXX>

Abstract. The abstract reflects the main content of the article: relevance, material and methodology, main results. The abstract should contain up to 250 words. For example: the viability index of lyophilized cultures of *Rhodococcus spp.* after long-term storage, sufficient to restore the cell population, has been determined. It is recommended to preserve alkanotrophic rhodococci under conditions of their preliminary cultivation on nutrient media. There should be no more than 15 keywords or phrases; they should be separated from each other by a comma, no dot at the end.

Keywords: design, article, rules

For citation: Ivanov I. I., Petrov P. P., Sidorov S. S. [Rules for the registration of articles in the Bulletin of Perm University. Biology Series]. *Bulletin of Perm University. Biology*. Iss. _ (202_): pp. ...-.... (In Russ.). http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-202_-_-...-2....

Acknowledgments: the work was supported by the Russian Science Foundation, Project № 17-77-300; the authors are grateful to Aleksey V. Zimin for providing the bottom topography data of the White Sea.

Введение

Оформление статей в «Вестник Пермского университета», Серия Биология выполняется в редакторе MicrosoftWord (версии 6.0, 7.0, 97, 2003) по настоящему образцу-шаблону; в нем содержатся основные правила, которыми должны руководствоваться авторы статей, а также стили, которыми форматируются стандартные элементы статьи. Количественные параметры большинства принятых форматов приводятся в тексте настоящих правил. Даны примеры оформления некоторых элементов статьи (формул, рисунков, таблиц, списка литературы и др.).

Параметры страницы

Формат листа, используемый для написания статьи – А4.
Размеры верхнего и нижнего полей – 2.6 см, правого и левого – 2.5 см.
Расстояние до верхнего и нижнего колонтитулов – 1.25 см.

Основной текст

В статьях экспериментального характера должны быть выделены разделы: **Введение** (можно без заголовка), **Материалы (или Объект)** и **методы исследований, Результаты и их обсуждение, Выводы (или Заключение)**. Набор текста статьи производится в одну колонку. Основной текст набирается шрифтом *Times New Roman Cyr*, размер – 10 пт (стиль **Текст**). Латинские названия таксонов (до семейства включительно) должны быть набраны *курсивом* (кроме авторов таксонов). Литературные ссылки даются на фамилии авторов и располагаются в хронологическом порядке.

При оформлении статьи необходимо различать дефис (-) и тире (–). В качестве знака “минус” надо использовать тире, а в качестве разделителя в десятичных дробях – точку (а не запятую). Для избегания “жидких” строк в тексте использовать переносы. Переносы в словах можно делать также в заголовках таблиц и в подписях к рисункам, однако они не допускаются в названии статьи и заголовках всех уровней. Желательно приводить значения цифровых величин в одной строке с сокращенным наименованием единиц измерения. Желательно также оставлять один пробел после одиночных точки или запятой, а также и других знаков, например: (4, 5), А.В. Иванов // J. Chem. Phys.

Не следует использовать нумерованные списки, а также форматировать с использованием неразрывного пробела между знаками.

Заголовки и колонтитулы

Форматы

Стилевое оформление отдельных элементов статьи можно осуществлять простой заменой аналогичного элемента настоящего образца-шаблона, компьютерным копированием необходимого стиля, а также непосредственным использованием имеющихся стилей образца-шаблона с помощью меню “Стиль”. Так, “шапка” статьи набирается с использованием следующих стилей: Заголовок статьи – стиль **Заглавие статьи** – шрифт *Times New Roman Cyr*, 14 пт, полужирный, прописными буквами; фамилии и имена авторов – стиль **Авторы** (12 пт), адреса авторов – стиль **Адреса авторов** (10 пт), аннотация – стиль **Аннотация** (10 пт).

Заголовки разделов и подразделов. Заголовки разделов набираются с использованием стиля Заголовок 1 (12 пт), а заголовки подразделов – Заголовок 2, Заголовок 3 (10 пт).

Формулы и уравнения

Формулы набираются в редакторе Microsoft Equation с выравниванием по центру и пробелами сверху и снизу по 6 пт (номер формулы, если формул несколько, выравнивается по правому краю колонки):

$$a = \text{th } x + \int_a^b f(x)dx + \text{ch } x - 25 \sum_{i=1}^N k_i A_i \quad (3.1)$$

Размеры и начертание всех элементов формул должны быть одинаковыми с их представлением в тексте (основной размер 10 пт, индексы 7 пт, например, A_i).

В тексте статьи и в математических уравнениях коэффициенты и аргументы функций набираются *наклонным* шрифтом, векторы – *наклонным жирным* шрифтом, цифры – обычным прямым шрифтом. Если уравнение не входит в одну строку, то его можно разбить на две или более строк.

Химические символы и формулы набираются прямым шрифтом.

Рисунки

Рисунки должны быть пригодны к воспроизведению в черно-белом виде. Для вставки рисунка в текст можно: 1) из меню Вставка – Рисунок – Из файла вставить заранее подготовленный рисунок в графическом редакторе; 2) использовать опцию “*Рамка текста*”, вставив затем в созданную рамку рисунок из заранее подготовленного файла (рис. 1). Рисунки, выполненные из отдельных элементов, должны быть **сгруппированы**. Подписи к рисункам обязательны и набираются обычным прямым текстом размером 10 пт; обозначения к рисунку – размером 9 пт. Названия таксонов в подписях даются только по латыни, *курсивом*.

Для более высокого качества рисунков их следует предоставлять в редакцию отдельными документами в формате .tif или .jpg с разрешением не менее 300 dpi.

Рисунки, выполненные не компьютерным способом (например, тушью), должны быть вклеены в текст. Единственный в статье рисунок содержит только подпись и не обозначается как рис. 1.

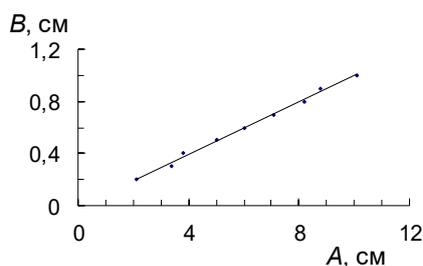


Рис. 1. Пример рисунка:

подрисуночная подпись для условного объекта с химической формулой K_2SO_4

[Example of a drawing:

a caption for a conditional object with the chemical formula K_2SO_4]

Размеры цифровых и буквенных обозначений, используемых на рисунках, должны быть сравнимы с размерами основного шрифта статьи. Деления шкал на рисунке желательно наносить с их внутренней стороны.

Таблицы

Оформление таблиц осуществляется по тем же правилам, что и оформление рисунков. Заголовки таблиц обязательны и набираются **полужирным шрифтом** размером 10 пт, как показано в примере (табл. 1). Примечание: Если в заголовке используются латинские названия таксонов, они набираются *курсивом*. Все столбцы должны иметь заголовки.

Таблица 1

Пример оформления таблицы и заголовка к ней для того же объекта K_2SO_4

[Example of the design of a table and its header for the same K_2SO_4 object]

Область оценки	Дисперсия сигнала (D)	ν (МГц)	Среднее
A	79	8.91*	5.6
Б	170	13.0	208.0
В	165	12.8	124.05

*Текст примечания.

Цифры в столбцах таблицы должны быть выровнены по точке десятичных дробей или по единице младшего разряда. Таблица может сопровождаться примечаниями.

Единственная в статье таблица не обозначается как «Таблица 1»; сразу набирается заголовок таблицы, а в тексте статьи дается ссылка на таблицу.

Суммарный объем иллюстративного и табличного материала не должен превышать $\frac{1}{3}$ всей текстовой части (без библиографического списка, реферата и проч.) статьи.

Список источников

1. Боч С.Г., Краснов И.И. К вопросу о границе максимального четвертичного оледенения в пределах Уральского хребта в связи с наблюдениями над нагорными террасами // Бюллетень Комиссии по изучению четвертичного периода. 1946. № 8. С. 46–72.

2. Гирёва М.В. Роль фотооксидазной активности в восстановлении оксианионов теллурита и селенита у пурпурных бактерий: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.16, 03.00.07. Пермь, 2005. 22 с.
3. Горчаковский П.Л. Основные проблемы исторической фитогеографии Урала. Свердловск, 1969. 286 с.
4. Дирина А.И. Право военнослужащих Российской Федерации на свободу ассоциаций // Военное право: сетевой журн. 2007. URL: <http://www.voennoepravo.ru/node/2149> (дата обращения: 19.09.2007).
5. Животный мир Вишерского края. Позвоночные животные: справоч. изд. / под общ. ред. А.И. Шепеля. Пермь: Кн. мир, 2004. 207 с.
6. Камелин Р.В., Юрцев Б.А. Новый вид *Astragalus igoschinae* (Fabaceae) с Полярного Урала // Ботанический журнал. 1982. Т. 67, № 9. С. 1285–1289.
7. Лавренко Е.М. История флоры и растительности СССР по данным современного распространения растений // Растительность СССР. М.; Л., 1938. Т. 1. С. 235–296.
8. Миркин Б.М., Наумова Л.Г. Наука о растительности. (История и современное состояние основных концепций) / отв. ред. А.И. Соломещ. Уфа: Гилем, 1998. 413 с.
9. О жилищных правах научных работников [Электронный ресурс]: постановление ВЦИК, СНК РСФСР от 20 авг. 1933 г. (с изм. и доп., внесенными постановлениями ВЦИК, СНК РСФСР от 1 нояб. 1934 г., от 24 июня 1938 г.). Доступ из справ.-правовой системы «КонсультантПлюс».
10. Шанцер Е.В. Антропогенная система (период) // БСЭ. 3-е изд. 1970. Т. 2. С. 100–106.
11. Энциклопедия животных Кирилла и Мефодия. М.: Кирилл и Мефодий: New media generation, 2006. 1 электрон. опт. диск (DVD-ROM).
12. Israeli E., Shaffer B.T., Lighthart B. Protection of freeze-dried *Escherichia coli* by trehalose upon exposure to environmental conditions // *Cryobiology*. 1993. Vol. 30. P. 519–523.
13. Mikata K., Banno I. Preservation of yeast cultures by L-drying viability after 5 years of storage at 5°C // *IFO Research Communications*. 1989. № 14. P. 80–103.
14. Raunkiaer C. The life forms of plants and statistical plant geography. Oxford: Clarendon Press, 1934. 632 p.

References

1. Boch S. G., Krasnov I. I. [On the question of the boundary of the maximum Quaternary glaciation within the Ural Ridge in connection with observations over upland terraces]. *Bulleten' Komissii po izučeniju četvertičnogo perioda*. No. 8 (1946): pp. 46-72. (In Russ.).
2. Gireva M. V. *Rol' fotooksidaznoj aktivnosti v vosstanovlenii oksianionov tellurite i selenite u purpurnych bakterij. Avtoref. diss. kand. biol. nauk* [The role of photooxidase activity in the reduction of tellurite and selenite oxyanions in purple bacteria. Abstract Cand. Diss.]. Perm, 2005. 22 p. (In Russ.).
3. Gorchakovskiy P. L. *Osnovnyye problemy istoričeskoj fitogeografii Urala* [The main problems of the historical phytogeography of the Urals]. Sverdlovsk, 1969. 286 p. (In Russ.).
- ...
5. Shepel A. I., ed. *Životnyj mir Višerskogo kraja. Pozvonočnye životnye* [The animal world of the Vishersky region. Vertebrates: reference edition]. Perm, Knižnyj mir Publ., 2004/ 207 p. (In Russ.).
- ...
12. Israeli E., Shaffer B.T., Lighthart B. Protection of freeze-dried *Escherichia coli* by trehalose upon exposure to environmental conditions. *Cryobiology*. V. 30 (1993): pp. 519-523.
- ...
14. Raunkiaer C. The life forms of plants and statistical plant geography. Oxford, Clarendon Press, 1934. 632 p.

Статья поступила в редакцию __.__.202__; одобрена после рецензирования __.__.202__; принята к публикации __.__.202__.

The article was submitted __.__.202__; approved after reviewing __.__.202__; accepted for publication __.__.202__.

Информация об авторах

И. И. Иванов – доктор биологических наук, профессор, зав. кафедрой гистологии;
 П. П. Петров – кандидат биологических наук, доцент кафедры органической химии;
 С. С. Сидоров – инженер лаборатории адаптации микроорганизмов.

Information about the authors

I. I. Ivanov, doctor of biology, professor, head of the Department of histology;
 P. P. Petrov – candidate of biology, associate professor of the Department of organic chemistry;
 S. S. Sidorov – engineer of the laboratory of microbial adaptation.

Вклад авторов:

Иванов И. И. – научное руководство; концепция исследования; развитие методологии; написание исходного текста; итоговые выводы.

Петров П. П. – доработка текста; итоговые выводы.

Сидоров С. С. – статистическая обработка материала.

Contribution of the authors:

Ivanov I. I. – scientific management; research concept; methodology development; writing the draft; final conclusions.

Petrov P.P. – followon revision of the text; final conclusions.

Sidorov S. S. – statistical processing of the material.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflicts of interests.

**Вестник Пермского университета.
Серия БИОЛОГИЯ =
2023. Выпуск 3**

**Bulletin of Perm University.
BIOLOGY
2023. Issue 3**

Научное издание

Редактор *Л. Л. Савенкова*

Корректор *Л. Л. Соболева*

Компьютерная верстка *С. А. Овеснова*

Подписано в печать 02.10.2023. Выход в свет 25.10.2023. Формат 60×84¹/₈.
Усл. печ. л. 10,5. Тираж 500 экз. Заказ № 41.

Издательский центр Пермского государственного национального исследовательского
университета
614068, г. Пермь, ул. Букирева, 15

Отпечатано с готового оригинал-макета в типографии издательства «Книжный формат»
614000, г. Пермь, ул. Пушкина, 80

Бесплатно.

Подписка на журнал осуществляется онлайн на сайте «Пресса России. Объединенный каталог»
<https://www.pressa-rf.ru/cat/1/edition/e41000/>. Подписной индекс 41000